

# 女川湾竹浦のホンダワラ科褐藻群落における葉上動物群集の動態に関する研究

著者	伊藤 浩吉
学位授与機関	Tohoku University
学位授与番号	11301甲第19899号
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10097/00132148">http://hdl.handle.net/10097/00132148</a>

女川湾竹浦のホンダワラ科褐藻群落における  
葉上動物群集の動態に関する研究

伊藤 浩吉

## 目次

### 第1章 序論

1.1. 海藻とその付着生物群集との関わり	.....1
1.2. ホンダワラ類の葉上動物群集	.....1
1.3. 研究の目的	.....4

### 第2章 葉上動物群集の動態

2.1. 緒言	.....6
2.2. 材料と方法	
2.2.1. 調査地	.....9
2.2.2. ホンダワラ類の植生調査	.....9
2.2.3. 葉上動物の採集	.....12
2.2.4. 葉上動物の分類	.....14
2.2.5. 群集構造の多変量解析	.....15
2.3. 結果	
2.3.1. 海洋環境の変動	.....16
2.3.2. ホンダワラ類の季節消長	.....23
2.3.3. 葉上動物の密度変化	.....23
2.3.4. 類似度に基づく群分類	.....28
2.3.5. 主成分分析による序列化	.....33
2.4. 考察	
2.4.1. 群集構造の季節的变化	.....38
2.4.2. 海藻種間での変化	.....40

### 第3章 葉上細菌叢の構造

3.1. 緒言	.....42
3.2. 材料と方法	
3.2.1. 葉上細菌の採集とメタゲノム DNA の抽出	.....43
3.2.2. 細菌 16S rRNA 遺伝子の塩基配列決定	.....43
3.2.3. 塩基配列に基づく系統解析	.....44
3.2.4. 群集構造の多変量解析	.....44
3.3. 結果	
3.3.1. 種数および多様度の変化	.....45
3.3.2. 分類階級毎の組成の変化	.....47
3.3.3. 類似度に基づく群分類	.....47
3.3.4. 主成分分析による序列化	.....52
3.4. 考察	
3.4.1. 群集構造の季節的変化	.....52
3.4.2. 海藻種間での変化	.....55

### 第4章 総合考察

4.1. 葉上動物群集の季節的遷移過程	.....58
4.2. 宮城県のホンダワラ類葉上動物群集	.....61
4.3. 藻場のモニタリングに対する今後の展望	.....63

謝辞	.....65
----	---------

引用文献	.....66
------	---------

## 第1章 序論

### 1.1. 海藻とその付着生物群集との関わり

海藻と動物との相互関係は藻場生態系を成立させる重要なしくみである。菊池 (1976) は、藻場に生息する底生無脊椎動物群集が (1) 真の底生動物と (2) 葉上付着動物の 2 つの要素からなるとした。葉上付着動物は固着性および移動性の動物で構成され、葉上の藻類 (海藻・藍藻・珪藻など) や微生物 (細菌・古細菌・真菌・ウイルスなど) とともに海藻の葉上生物群集を構成している。

葉上生物群集は基質海藻にさまざまな影響を与える。端脚類は海藻を直接摂食することもあるが (Brawley 1992; Duffy & Hay 2000; 赤池ら 2002), 多くは葉上の微細藻類を食物にしており、その摂食活動によって海藻の成長が促進される (Brawley & Adey 1981; Orth & Van Montfrans 1984; Duffy 1990; Bracken et al. 2007; Poore et al. 2012)。葉上の藻類は海藻から溶出した有機物を利用したり (Sieburth 1969; Khailov & Burlakova 1969; Mann 1982), 着生によって海藻の光合成を阻害したりする (Booth 1987; Rohde et al. 2008)。一方、貧栄養な熱帯海域では葉上の藍藻類が海中溶存窒素を固定し、それを摂食した葉上動物の排泄物を經由して、海藻に窒素が供給されることもある (Mukai & Iijima 1995)。葉上の細菌類には海藻の疾病を引き起こすものもあるが、海藻に二酸化炭素や無機栄養塩類を与えたり、病原体や汚損生物からの防御、形態の形成に関わったりする細菌もある (reviewed by Goecke et al. 2010; Hollants et al. 2013; Egan 2013; Singh & Reddy 2014) (図 1-1)。

### 1.2. ホンダワラ類の葉上動物群集

ヒバマタ目ホンダワラ科の褐藻類は、沿岸藻場や流れ藻の主要な構成種として知られている (大野 1985)。ホンダワラ類は藻体に配された気胞により浮力を得ることで海底から起立し、高さ数メートルにおよぶ海中森林を形成することがある。また、ホンダワラ類の形態は葉状部・茎状部・付着器のように高度に分化しており、複雑な立体構造を呈する。

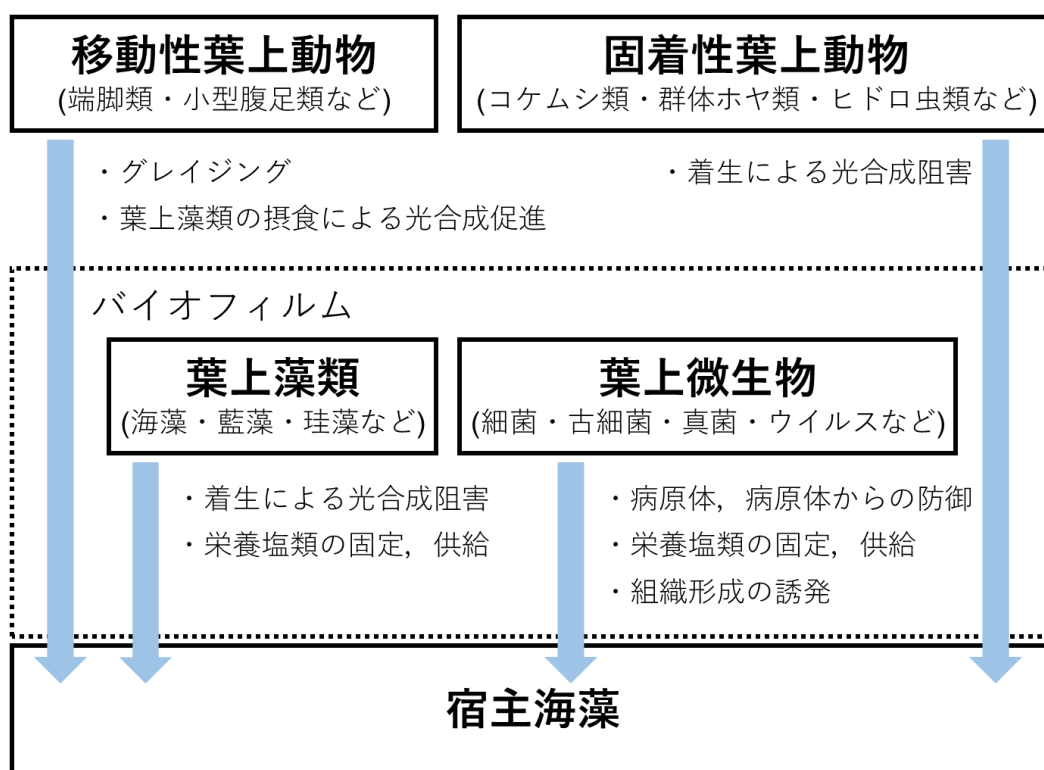


図 1-1. 葉上生物群集が基質海藻に与える影響

このため、コンブ目などの藻場を形成する他の海藻類に比して、ホンダワラ類の藻体表面には多様で高密度な付着動物群集が生息している (Taylor & Cole 1994)。Norton & Benson (1983) はタマハハキモク *Sargassum muticum* 葉上から 10 門以上の分類群が出現したことを、Mukai (1971) はウスバノコギリモク *Sargassum serratifolium* の葉上動物が 1 株あたり最大で 266,000 個体に達したことをそれぞれ報告している。また、葉上動物群集の組成や密度には、ホンダワラ類の藻体内あるいは群落内で垂直的な差異が生じる (Imada et al. 1981; 藤田ら 2003; Kodama et al. 2017; Ito et al. 2019)。

空間的特徴に加えて、温帯性のホンダワラ類は現存量の著しい季節消長を示す。北半球に位置する日本では、一般に 10–12 月頃に萌出した主枝が 1–3 月にかけて伸長する。その後、主枝から派生した側枝が発達して肥大し、4–6 月には現存量が極大に達するが、繁殖後の夏には現存量の大部分あるいはすべてが流出する (7–9 月)。ホンダワラ類のほとんどの種はこのようなフェノロジー (生物季節) を複数年にわたって経験する多年藻であり、そのパターンは種間や地域個体群の間でも異なっている (谷口・山田 1978; 丸井ら 1981; 高場・溝上 1982; Umezaki 1984; 吉田 2005; 土屋ら 2010, 2011; 八谷ら 2011)。

ホンダワラ類のフェノロジーに応じて葉上動物群集の構造がどのように変化するのかが興味深い。葉上動物は新しく萌出・伸長した藻体に参加し増殖するが、その藻体はやがて流出してしまう。藻体が海底の基質を離れて海面に向かって浮上する際には、多くの付着動物が脱落していく様子がしばしば観察される。海面付近で漂流を開始した藻体にはその後、水塊中から新たに動物が加入し、流れ藻独特の葉上動物群集が形成されることがある (青木 2004)。つまり、沿岸の葉上動物がホンダワラ類を生息場所として利用できるのは、藻体が沿岸に生育するわずか半年間程度であると考えられる。この間、葉上動物は藻体にどこから加入し、どのように個体群を成長させるのだろうか。向井 (1996) は、藻体流出後は周辺の他地域で個体群が低密度に維持され、それが加入時のソースになるという仮説を提示しているが、このことは未だに仮説の域を出ない。青木 (1998) はフクロエビ類の

移動可能性について考察した上で、葉上動物の加入プロセスを解明するためにはさらなる検証を要するとしている。また、ホンダワラ類の葉上動物の動態に関するこれまでの研究では、端脚類や巻貝類といった特定分類群の動態や分類群全体の動態が扱われてきたが、そのほとんどは体長が 0.5 mm より大きなマクロベントスのみを対象としており、0.5 mm 以下のメイオベントスまで調べた研究はきわめて少ない (第 2 章で後述)。

葉上動物の食物となり得るバイオフィルムを構成するミクロベントスについての知見はさらに少ない。たとえば葉上の微細藻類については、日本および朝鮮半島の沿岸を起源とする侵略的外来種として知られるタマハハキモクに関する研究がわずかに報告されている (Withers et al. 1975; Aguilar-Rosas & Galindo 1990; Bjærke & Fredriksen 2003)。葉上細菌叢については、遺伝子解析技術の進展を背景に網羅的な組成解析が行われ始めているが、ホンダワラ類に関するものでは、タマハハキモク (Serebryakova et al. 2018) と、近縁のウガノモク属 (Mancuso et al. 2016) の 2 例しか報告されていない (第 3 章で後述)。ホンダワラ類の葉上動物群集の動態は、実質的には基質海藻のフェノロジーに伴うマクロベントス群集の変化として論じられてきたのである。

### 1.3. 研究の目的

Rohwer et al. (2002) は、造礁サンゴとその共在微生物叢とのさまざまな相互関係から、それらを一つの生物体と考えるホロビオン (holobiont) 仮説を提唱した。これを皮切りにサンゴの性質や状態を理解するためには、共在微生物叢を調べる必要があるという認識が広がった (reviewed by Ronsenberg et al. 2007)。Egan et al. (2013) は、海藻とその共在生物群集も微生物との相互関係によって成り立つホロビオンであると提唱し、海藻葉上の微生物群集への注目が高まるきっかけとなった。こうした背景を踏まえれば、ホンダワラ類のフェノロジーと葉上動物群集との関係を理解するためには、マクロベントスだけでなく



メイオベントスやそれらの食物となり得る葉上のマイクロベントス，とくにバイオフィルムを構成する細菌叢も含めて調べる必要があると考えられる。

本研究では，ホンダワラ類のフェノロジーに伴う葉上動物群集の季節的な遷移の過程を明らかにすることを目的とした。第2章では，メイオベントスを含む葉上動物群集の動態について4年間の定期採集により得られたデータを解析するとともに，基質海藻を介した調査地周辺の海洋物理化学的環境との関係性を明らかにした。第3章では，葉上細菌叢の組成を細菌メタ 16S rRNA 遺伝子のアンプリコンシーケンスにより解析し，基質海藻のフェノロジーや海洋環境との関係性を明らかにした。第4章では，動物群集と細菌叢との関係性について論じた上で，葉上動物群集とそれを取り巻く環境の変化の全体を総括し，将来の藻場モニタリングについての展望を提示した。

## 第2章 葉上動物群集の動態

### 2.1. 緒言

海藻の葉上動物は、沿岸の大型植物や葉上の微細藻類が生産したエネルギーを魚類などの高次の栄養段階に橋渡しする役割を持つ (Davenport & Anderson 2007; Korpinen et al. 2007; Newcombe & Taylor 2010)。したがって、葉上動物群集の特性やその動態を明らかにすることは、藻場生態系の物質循環や生物生産のしくみを理解することにつながる。葉上動物の組成や密度に影響を与える要因には、基質海藻の現存量および形態 (Gunnill 1982a, b; Gee & Warwick 1994a, b; Tanaka & Leite 2003)、葉上藻類の現存量 (Norton & Benson 1983; Martin-Smith 1993)、葉上動物の生活史や種間競争 (Coen et al. 1981; Edgar 1990a; 向井 1990)、魚類などの捕食者の有無 (Stoner 1979; Heck & Thoman 1981; Clements & Livingston 1984) といった生物的要因と、水温や塩分 (Dahl 1948; Hagerman 1966)、重金属などの汚染物質 (Jones 1973; Sheppard et al. 1980)、濁度 (Moore 1973; Hicks 1980)、葉上の堆積物粒子の量およびサイズ (Hicks 1980; Gibbons 1988a)、水深 (Edgar 1983a; Jacobucci et al. 2019)、波あたり (Norton 1971; Fenwick 1976; Gibbons 1988b) といった非生物的環境要因がある。とくに基質海藻の構造に関する要因は、海藻と葉上動物群集との相互関係を理解する上で重要である。

ホンダワラ類の葉上動物に関する研究では、基質海藻の形態やフェノロジーが群集構造に与える影響について調べられてきた。形態の影響を調べた例では、ホンダワラ科どうし (Taylor & Cole 1994; 山本ら 1999; Carvalho et al. 2018; Belattmania et al. 2018)、あるいは外来のタマハハキモクと在来潮下帯のヒバマタ目褐藻との間で群集構造を比較した例がある (Viejo 1999; Wernberg et al. 2004; Buschbaum et al. 2006; Gestoso et al. 2012)。しかし、目以上の上位の分類階級では、葉上動物の出現分類群に差異が見出されることは少ない (Edgar 1983c; 向井 1994a, 1996)。基質海藻のフェノロジーに注目した研究では、端脚類 (Imada & Kikuchi 1984; 青木 1988; Duffy 1990; Jacobucci et al. 2009; Poore et al. 2013) や巻貝類 (向井

1976; Chemello & Milazzo 2002; 倉持 2005), 多毛類 (Kus & Kurt-Sahin 2016), ヒドロ虫類 (Kato et al. 1961; Nishihira 1968; Cunha & Jacobucci 2010) などの特定分類群について, ホンダワラ類の季節消長との関係性が報告されている。一方, 分類群全体を扱った研究では, 基質海藻のフェノロジーではなく, 動物分類群毎の生活史や葉上の微細藻類の量によって変化したという例が多い (布施 1962; Edgar 1983a; Wernberg et al. 2004)。しかし, これらの既往研究のほとんどはマクロベントスのみを対象としたものである。これに対してメイオベントスまで調べた研究は少ないが, それらでは, 海藻種間の差異 (鈴木ら 2015) や基質海藻のフェノロジーに伴う群集構造の変化が報告されている (Mukai 1971; Sarma 1974; Kito 1975; 1977; Curvelo & Corbisier 2000)。

調査対象とするサイズ群によって, 出現する分類群の組成は異なる (Gee & Warwick 1994b; Tanaka & Leite 1998)。葉上メイオベントスには, ソコミジンコ類や貝形虫類, 線虫類, 有孔虫類, ダニ類といった独特の分類群 (reviewed by Hicks & Coull 1983; Hicks 1985) をはじめ, マクロベントスに代表的な端脚類や貝類の幼体なども出現する。個体あたりの現存量は, マクロベントスの 10 分の 1 程度と言われている (Gibbons & Griffith 1986) が, 個体数密度はしばしば卓越する。このため, 群集構造に対する生息場所の構造の複雑さの影響は, マクロベントスとメイオベントスで異なる (McKznzie & Moore 1981; Edgar 1983c; Hicks 1985)。青木 (1973) は, 土壌動物学の視点から分類群をいずれかのサイズ群に当てはめることはできないとした上で, 群集動態を正確に把握するためには, メイオフアウナまで含めて調べる必要があると指摘している。このことは, 海洋ベントスについても同様である (Bachelet 1990)。

ベントスの群集調査をすることは, 生態系に対する攪乱や環境変動の影響を把握する上でも重要である (Raffaelli & Mason 1981; Warwick 1981, 1986)。宮城県女川湾沿岸は, 2011 年 3 月 11 日に発生した東北地方太平洋沖地震および津波による攪乱を受けた。海草類や大型褐藻類などの植物ベントスについては, 津波や震災後の復旧・復興工事が植生分布に

与えた影響が注目されている (Tsujiimoto et al. 2016; Suzuki et al. 2017, 2021)。環境省でも、震災後の三陸沿岸における藻場の植生調査が行われている (環境省 2013, 2014, 2015 a, b, 2016 a, b, 2017, 2018, 2019)。しかし、女川湾では藻場の葉上動物に関する調査はほとんど行われていない (鈴木ら 2015)。

女川湾北部に位置する竹浦地区は、マボヤやマガキ、ホタテガイ、ギンザケの養殖業を主要産業とした漁村集落である。震災後は三陸有数のダイビングスポットとして知られるようになり、週末には全国から訪れるレジャーダイバーで賑わう。2019 年 4 月には女川町竹浦地域交流センター「竹浦マリンビレッジ」が建設され、持続的な地域の活性化が期待されている。竹浦では、「女川原子力発電所温排水調査」によって主要な底生生物の分布が過去 30 年以上にわたって記録されている (宮城県・東北電力 (株) 2020)。震災後は東北マリンサイエンス拠点形成事業 (Tohoku Ecosystem-Associated Marine Sciences: TEAMS) の「女川湾定期調査」によって、海洋物理環境に関するデータが継続的に取得されている (Fujii et al. 2019)。これらを活用すれば、竹浦で得られた生物群集データについて生物環境の長期動態を踏まえた解釈をすることが可能である。

本章では、女川湾竹浦沿岸のホンダワラ類群落で 4 年間にわたる葉上動物群集の調査を行った。調査にあたってはホンダワラ類のフェノロジーに応じた定期採集を行い、マクロベントスだけでなくメイオベントスも対象とすることで、群集構造の季節的な遷移過程を明らかにすることを目的とした。メイオベントスの中でとくに優占し、生息環境に応じて種組成が変化すると考えられるソコミジンコ類については、外骨格の形状に基づく形態群に分類し、その組成の変化に注目した。また、同所的に生育する 2 種のホンダワラ類から採集を行い、海藻種間での差異の有無を検証した。さらに、調査地周辺で取得された環境データを引用し、基質海藻を介した群集構造と海洋環境との関係性を明らかにすることを目的とした。

## 2.2. 材料と方法

### 2.2.1. 調査地

竹浦沿岸は距岸距離 300–500 m で水深 30–35 m に達するため、藻場の分布域は海岸線付近に限定されている。研究に先立ち、地元漁業者からの聞き取りを基に竹浦全域の藻場分布調査を行い、港から東に 500 m にある入り江「アンプク・ナカブク」を調査地とした(図 2-1)。入り江の奥から南東の沖合 600 m にある中ノ島にかけては水深 10 m 以浅の緩斜海底が続く、大型植物の生育深度帯は水深 1–6 m であった。調査地にはホンダワラ科褐藻のトゲモク *Sargassum micracanthum* が優占する岩礁域と、海産顕花植物のアマモ *Zostera marina* およびタチアマモ *Zostera caulescens* が生育する砂泥域がモザイク分布していた(図 2-2)。低潮線付近には、トゲモクと同じ多年生ホンダワラ類であるヨレモク *Sargassum siliquastrum* の小規模群落やコンブ目褐藻のアラメ *Eisenia bicyclis* も低密度に見られた。植食グレイザーは、水深 10 m 以深の周辺岩礁域に比して低密度であった(キタムラサキウニ *Mesocentrotus nudus*: 2 ind./m<sup>2</sup> 以下)。

### 2.2.2. ホンダワラ類の植生調査

ホンダワラ類の現存量の季節消長を明らかにするために、優占種トゲモクの枠取り調査を行った。2016 年 11 月から 2020 年 8 月に、温帯性ホンダワラ類の一般的なフェノロジー(萌出期: 10–12 月, 伸長期: 1–3 月, 肥大型: 4–6 月, 流出期: 7–9 月)に応じて、年 4 回の頻度で計 16 回の調査を行った。トゲモクは水深 1–3 m の比較的波あたりの強い岩礁上に高密群落を形成していた。毎回、その密度を代表する場所で、たがい 2 m 以上離して 25 cm × 25 cm の方形枠を 4 つ設置した (N = 4)。枠内のトゲモクについて、付着器を含む藻体のすべてを SCUBA 潜水により採集した。採集したトゲモクは、主枝長を測り、80°C の恒温乾燥機で 48 時間以上乾燥させて乾重量 (g DW: dry weight) を測定し、枠毎の現存量密度 (g DW/m<sup>2</sup>) を算出した。ヨレモクは群落が小規模であったことから、群落の保全を

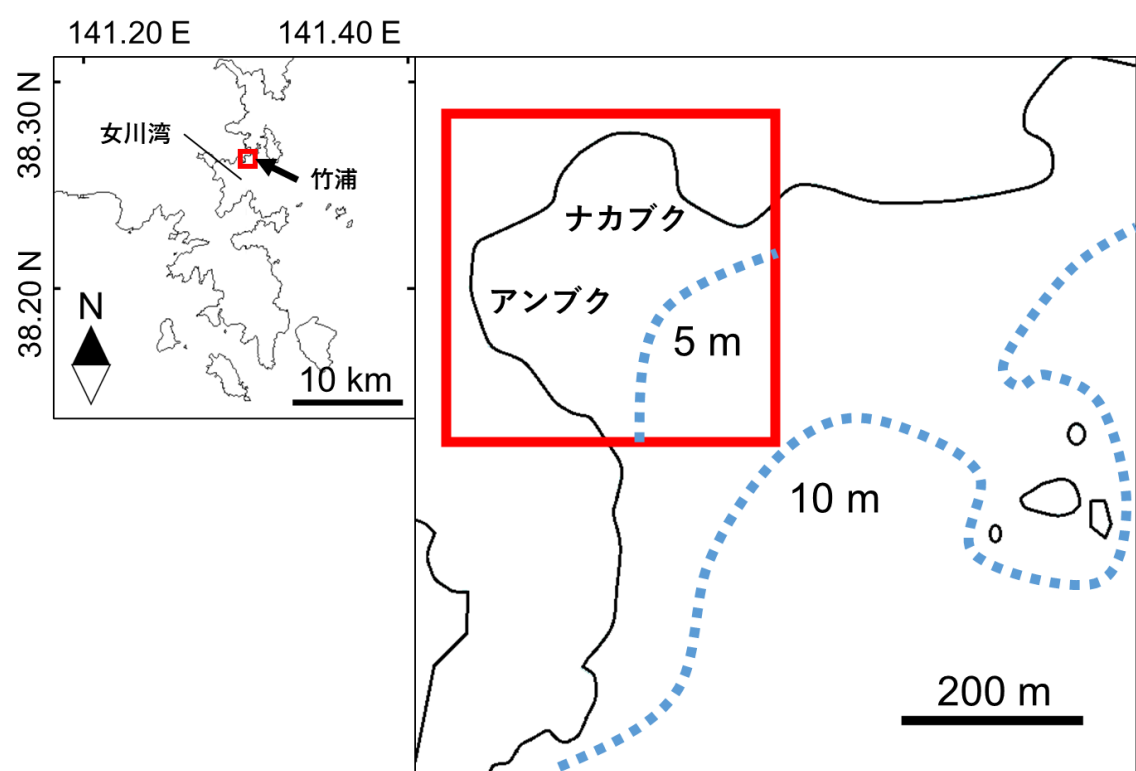


図 2-1. 女川湾竹浦の調査地地図. 右図の破線は、水深 5 m および 10 m の等深線を表す。

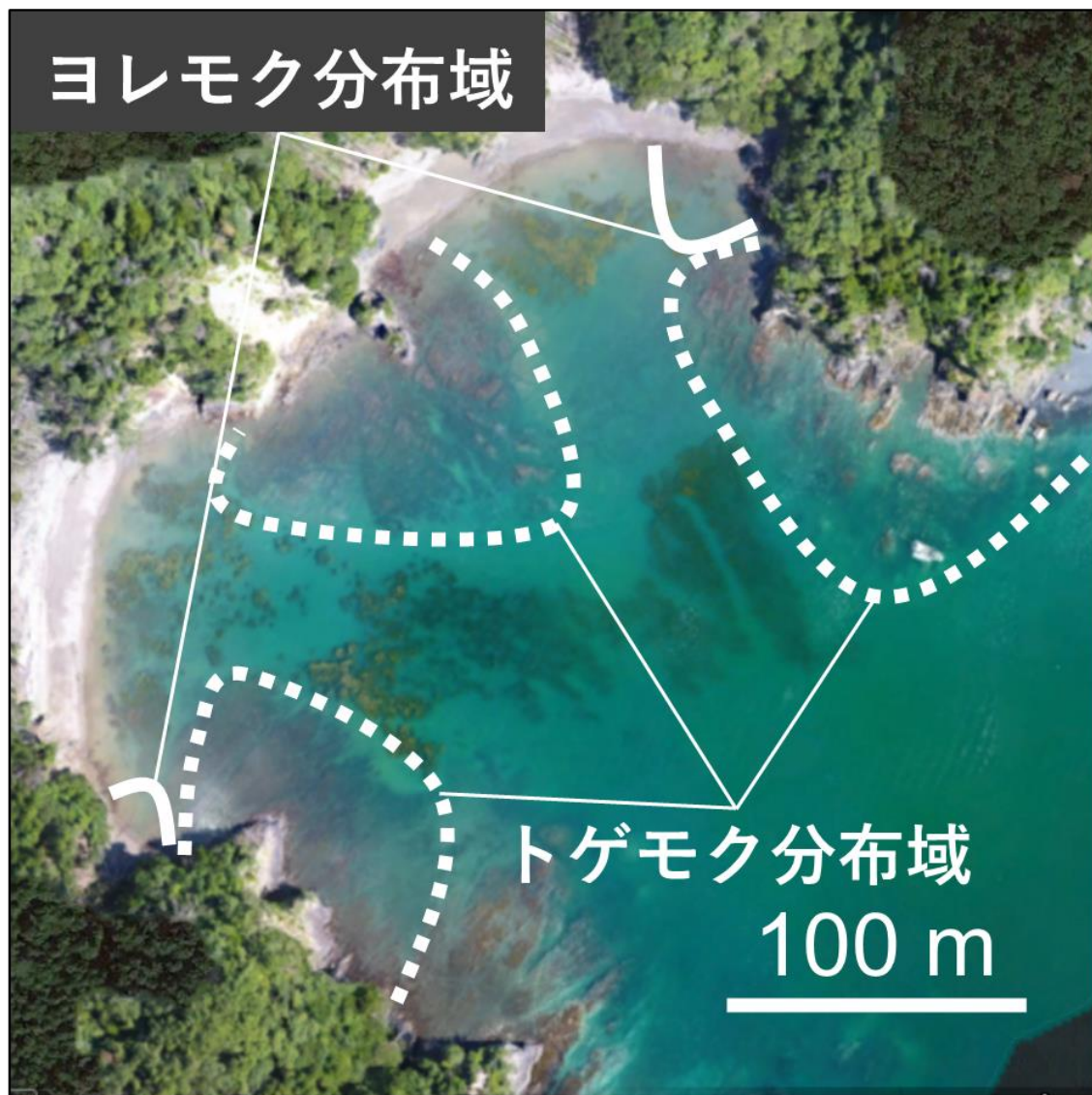


図 2-2. 調査地におけるホンダワラ類の分布域 (2019 年 8 月 1 日にドローンにより撮影).

破線で示したエリアはトゲモク，実線で示したエリアはヨレモクの分布域を表す。

優先して現存量の採集を行わず、季節動態については近隣海域の石巻市狐崎浜 (38°21'N, 141°25'E) で得られたデータ (Bakti 2018) を参照した。当該データは、2017 年 3 月から 2018 年 2 月までほぼ毎月 1 回の採集調査によって取得されたものである。

トゲモクとヨレモクのそれぞれの分布域における波浪環境の違いを明らかにするために、HOBO ペンダントロガー (UA-004-64, Onset 社) による 3 軸加速度の測定を行った。ロガーは、重さ約 23 kg のコンクリートブロックに取り付けた長さ約 30 cm, 太さ約 5 mm の海中浮力を有するポリプロピレン製紐の末端に取り付けて、2020 年 6 月 11 日から 8 月 20 日まで、水深約 2 m の海底に設置した。

ホンダワラ類の分布域と景観の季節変化を明らかにするために、ドローン (Phantom 4, DJI 社) による調査地の空中撮影を行った。撮影は、2019 年 8 月から 2020 年 8 月まで、トゲモクの枠取り調査と同日か、可能な限りそれに近い日に実施した (表 1)。毎回、撮影区域の砂浜海岸に地上基準点 (GCPs: Ground Control Points) として救命浮環 (NS-250, 日本船具社) を 6 つ設置し、GPS (eTrex10J, Garmin 社) により各点の位置情報を取得した。DJI GS Pro アプリにより、高度 120 m, 移動速度 2 m/s, 前後左右の重複率 70% の条件で調査地全体の自動飛行撮影を行った。垂直方向の自動撮影に加えて、斜め方向の手動撮影も行った。太陽光の海面反射によるハレーションの影響を避けるために、カメラレンズに減光・偏光フィルター (ND8-CPL, LENSKINS 社) を装着して、午前 9 時から午前 10 時までの間に撮影を行った。

### 2.2.3. 葉上動物の採集

トゲモクの枠取り調査と同日に、トゲモクとヨレモクから葉上動物を採集した。毎回、それぞれの群落でたがい 2 m 以上離れた地点から無作為に 4 株を選んだ (N = 4)。基質海藻の垂直的な形態の差異による影響を少なくするために、環境省 (2008) に倣い、主枝の先端から約 20 cm あたり、湿重量約 10–50 g あたりの葉上動物を基質海藻ごと SCUBA



表 1. ドローンによる空中撮影日とそれに対応するトゲモクの枠取り調査日.

ドローンによる空中撮影日	トゲモクの枠取り調査日
2019 年 8 月 1 日	2019 年 8 月 1 日
2019 年 12 月 12 日	2019 年 11 月 25 日
2020 年 3 月 23 日	2020 年 2 月 19 日
2020 年 6 月 11 日	2020 年 6 月 11 日
2020 年 8 月 20 日	2020 年 8 月 20 日
2020 年 12 月 1 日	不実施

潜水により採集した。採集時には、葉上動物を逃がさぬように海中で静かにチャック付き透明プラスチック袋 (Ziploc フリーザーバッグ M, 高さ 189 mm, 幅 177 mm, 厚さ 0.06 mm, 旭化成ホームプロダクツ社) に入れて密封した。各袋にはあらかじめ、剣山で直径約 0.1 mm の水切り穴を 300–400 個開けて用いた。採集後は速やかに海水を排して研究室に持ち帰り、処理を行うまで  $-30^{\circ}\text{C}$  で冷凍保存した。

#### 2.2.4. 葉上動物の分類

葉上動物の試料は水道水で 3 回以上すすぎ、基質海藻から葉上動物をふるい落とした。葉上動物は、目合い 0.1 mm の篩に残ったすべての個体について実体顕微鏡下で分類群毎に分けた。定量化の難しいウズマキゴカイ類、コケムシ類、ヒドロ虫類、群体ボヤ類などの固着性動物や、全試料中の出現個体数が 10 個体未満の分類群、原生生物を除き、識別容易な主要 11 分類群 (ヨコエビ亜目, ワレカラ亜目, 等脚目, ソコミジンコ目, 貝形虫綱, 腹足綱, 二枚貝綱, 多毛綱, 線形動物門, 有孔虫目, ダニ目) に分類してそれぞれの個体数を計数した。破損した個体については、頭部を 1 個体とみなした。得られた個体数データは、基質海藻の単位乾重量あたりの個体数密度 (ind./g DW) として解析に用いた。

2017 年 11 月以降の試料については、分類群毎の計数を行う前に、目合いが異なる篩を用いて、4 つのサイズ群 (0.1–0.5 mm, 0.5–1 mm, 1–2 mm, 2 mm <) に分けた。Edgar (1990b) の変換式により葉上動物の脱灰乾重量 (mg AFDW: ash free dry weight) を推定し、基質海藻の単位乾重量あたりの現存量密度 (mg/g DW) として解析に用いた。

$$\log B = -1.01 + 2.64 \log S$$

$B$ : mg AFDW;  $S$ : mm sieve size (Edgar 1990b)

2019 年 11 月以降の試料については、ソコミジンコ類のみ外骨格の形態に基づいて 7 つの形態群 (紡錘形・円筒形・卵形 (*Porcellidium* sp.1)・楕円形 (*Porcellidium* sp.2)・洋梨形・

イソミジンコ属 (*Tisbe* spp.)・その他) に分類した。それぞれの個体数を計数し、基質海藻の単位乾重量あたりの個体数密度 (ind./g DW) として解析に用いた。

#### 2.2.5. 群集構造の多変量解析

葉上動物の平均総個体数密度と平均総現存量密度 ( $N = 4$ ) との関係を明らかにするために、総個体数密度を対数軸にとった片対数グラフ上にすべてのサンプルをプロットした。

葉上動物群集の類似度に基づき、クラスター分析と非計量多次元尺度構成法 (nMDS: Nonmetric Multidimensional Scailing) を行った。クラスター分析は、 $\log(x + 1)$  変換した個体数密度から算出した Bray-Curtis 類似度指数を基に群平均法で行った。ホンダワラ類のフェノロジー (4 水準: 萌出期・伸長期・肥大期・流出期) および基質海藻の種 (2 水準: トゲモク・ヨレモク) による群集構造の差異は、二元配置類似度行列分析 (ANOSIM: Analysis of similarities) (Clarke 1993) で検証した。水準間に有意差が見られた要因については、Bonferroni の多重比較を行った。以上の解析には、統計ソフト PRIMER v6 (Clarke & Gorley 2006) を用いた。

葉上動物の群集構造に対する分類群および環境パラメータの反応を明らかにするために、序列化を行った。はじめに葉上動物の反応モデル (線形, 山形) を決めるための除歪対応分析 (DCA: Detrended correspondence analysis) を行い、群集の傾度 (序列化軸に沿った群集組成の  $\beta$  多様性) を確認した。その結果、傾度が 4 未満であったため、Lepš & Šmilauer (2003) にしたがって、線形モデルの間接傾度分析の手法である主成分分析 (PCA: Principal component analysis) を行った。群集構造の変化と海洋物理環境との関係性を明らかにするために、女川湾定期調査 (Fujii et al. 2019) で得られた環境パラメータを補助的変数として座標軸上に投影した。使用したデータは、2016 年 9 月から 2020 年 8 月までの毎月の水質データ (水温 (°C), 塩分 (psu), 溶存酸素濃度 (DO) (mg/l), クロロフィル *a* 濃度 (Chl-*a*) (μg/l), 濁度 (FTU), 溶存態無機窒素 (DIN:  $\text{NH}_4\text{-N} + \text{NO}_2\text{-N} + \text{NO}_3\text{-N}$ ) (μM), 溶存態無機リ

ン (DIP: PO<sub>4</sub>-P) (μM), 溶存態ケイ素 (DSi: SiO<sub>2</sub>-Si) (μM)) と, 2016 年 9 月から 2020 年 9 月までの奇数月に取得された底質データ (底質粒度組成 (礫・砂・シルト・粘土) (%), 化学的酸素要求量 (COD) (mg/g)) である。各変数の変動に季節的な周期性の有無を見出すために, 直近 3 か月間の移動平均値を算出した。水質データは, 葉上動物の採集を行った当月とその過去 2 ヶ月間の値から平均値を求めた。隔月の底質データについては, 偶数月の値を前後の奇数月の平均値とし, この値を用いて水質と同様に 3 ヶ月の平均値を算出した。データの分散を正規分布に近づけるために, 塩分・DO・Chl-*a*・底質には自然対数変換, DIN・DIP・DSi には平方根変換を行った。解析には, 統計ソフト CANOCO 4.5 (ter Braak & Smilauer 2002) を使用した。

## 2.3. 結果

### 2.3.1. 海洋環境の変動

本研究の調査期間 (2016 年 11 月から 2020 年 8 月) における, 環境パラメータの実測値 (ただし底質では奇数月のみ実測値。偶数月は前後の奇数月の平均値) を図 2-3 から図 2-5 に示した。水温は 8 月に極大値, 2-3 月に極小値をとり, 7.1-24.2°C で変動した。塩分はこれと対照的に 12-2 月に極大値, 6-8 月に極小値をとり, 31.6-34.7 psu で変動した。溶存酸素濃度は 3-4 月に極大値, 8-10 月に極小値をとり, 7.1-11.3 mg/l の間で変動した。溶存態無機窒素 (DIN)・溶存態無機リン・溶存態ケイ素の各濃度は, 1-4 月の低水温期に極大値, 6-9 月の高水温期に極小値となる傾向が見られた。溶存態無機窒素では, とくに硝酸態窒素濃度が 12-1 月に増加する傾向が見られた。底質粒度組成の期間全体の平均値は, 礫 (2 mm 以上) : 3%, 砂 (0.075-2 mm) : 40.9%, シルト (0.005-0.075 mm) : 38.4%, 粘土 (0.005 mm 未満) : 17.7% となり, 含泥率 (シルト + 粘土) で 55% 以上, 含砂率との合計で 95% 以上を占めていた。底質化学的酸素要求量は 11.4-26.5 mg/g で変動した。各パラメータの 3 ヶ月移動平均値を図 2-6 から図 2-8 に示した。水温・塩分・溶存酸素濃度・各

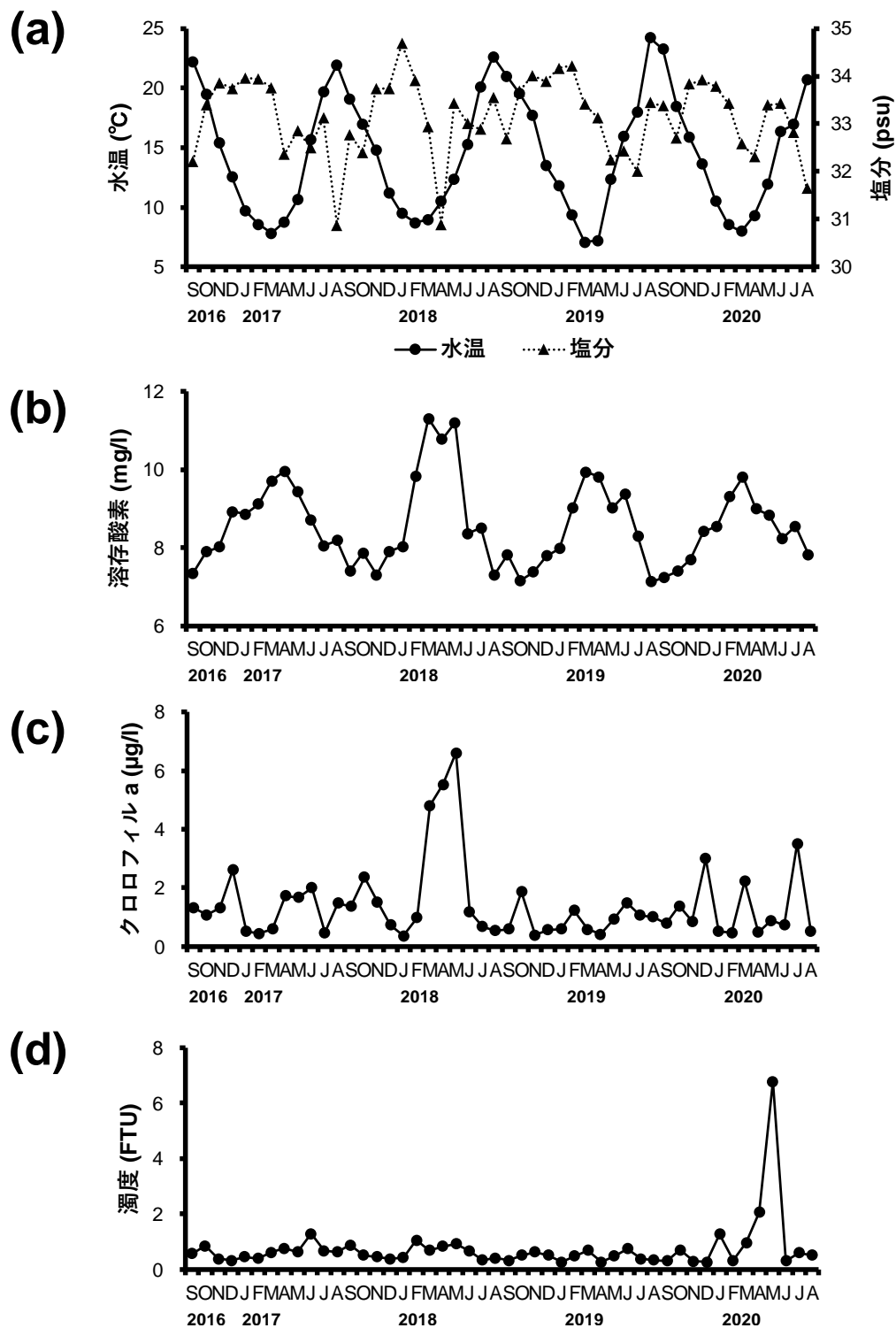


図 2-3. 女川湾竹浦における水質パラメータの変動. 図はそれぞれ, (a) 水温・塩分, (b) 溶解酸素濃度, (c) クロロフィル *a* 濃度, (d) 濁度の実測値の推移を表す。



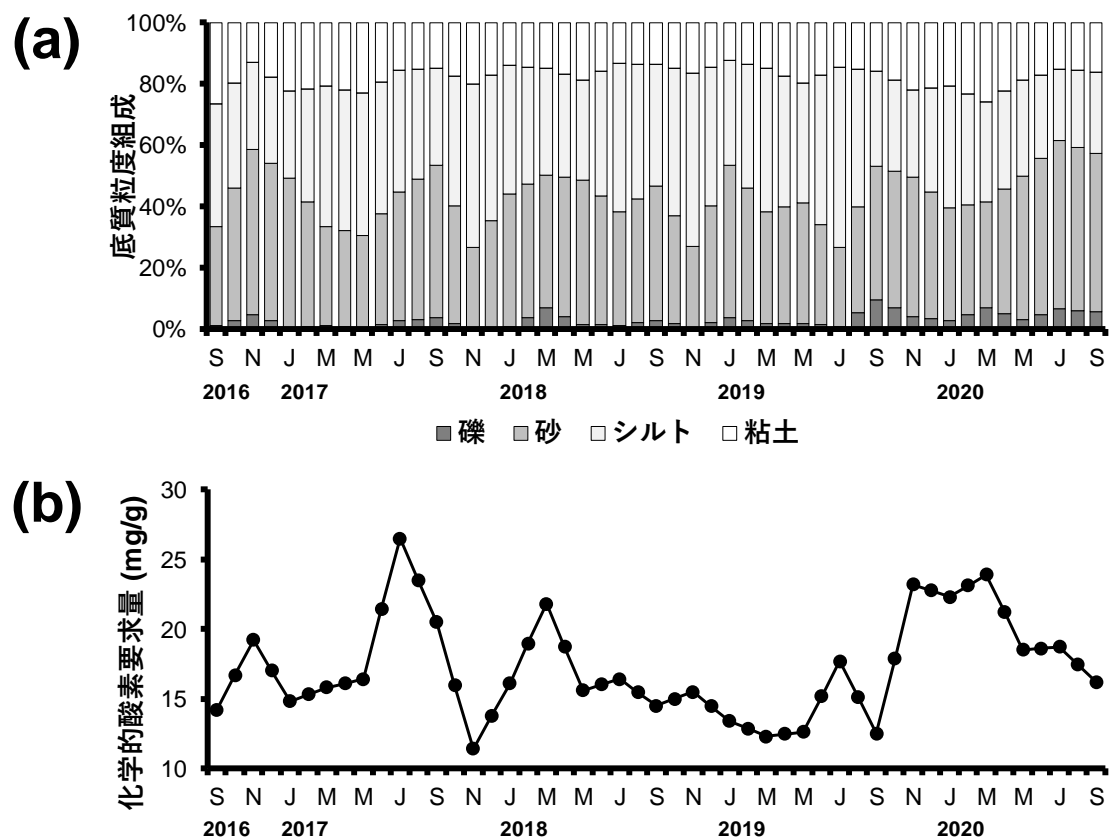


図 2-5. 女川湾竹浦における底質パラメータの変動. 図はそれぞれ, (a) 底質粒度組成, (b) 化学的酸素要求量の推移を表す. ただし, 奇数月の値は実測値, 偶数月の値は前後の奇数月の値の平均値 (ダミー値) である。

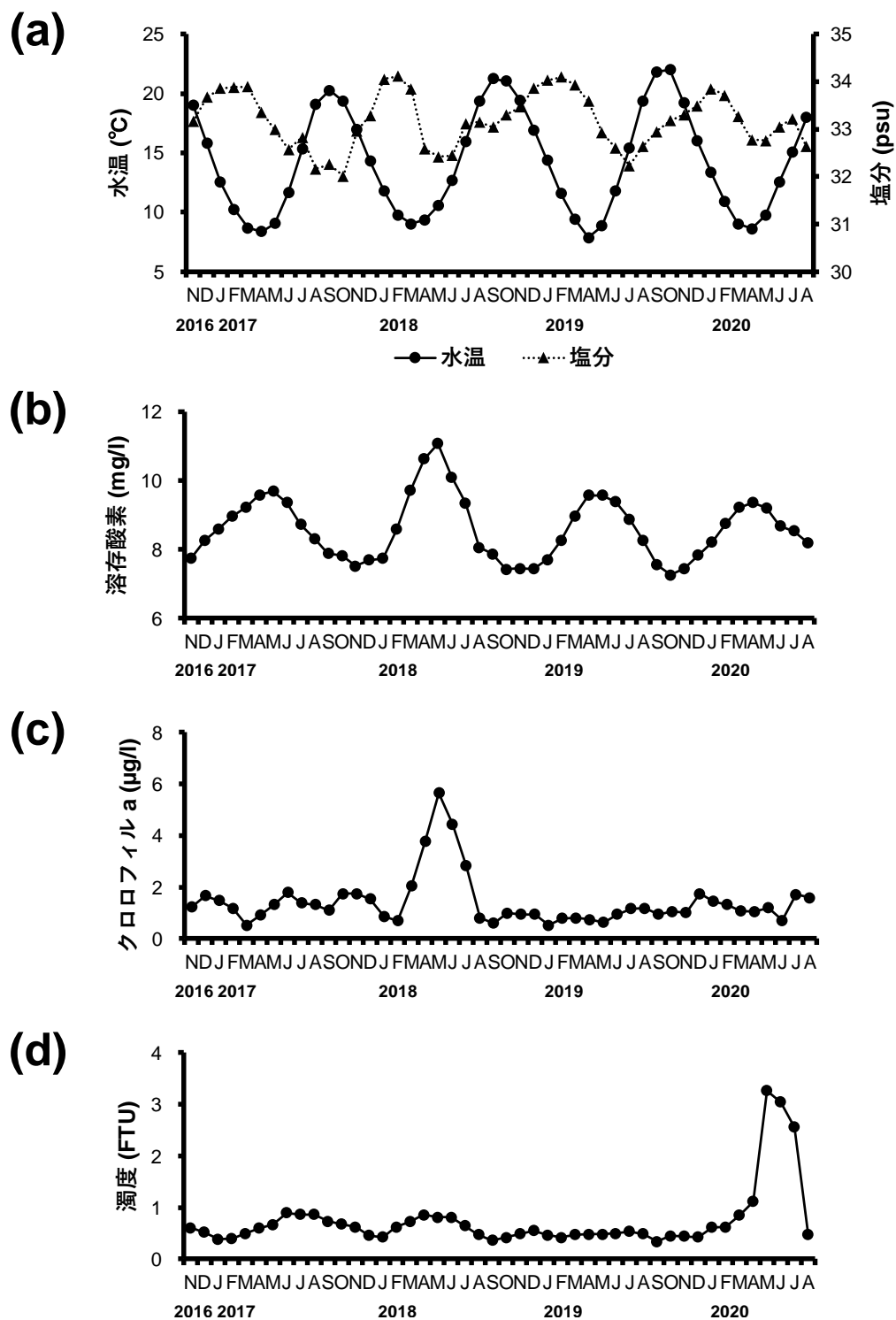


図 2-6. 女川湾竹浦における水質パラメータの変動. 図はそれぞれ, (a) 水温・塩分, (b) 溶解酸素濃度, (c) クロロフィル *a* 濃度, (d) 濁度の 3 ヶ月移動平均値の推移を表す。



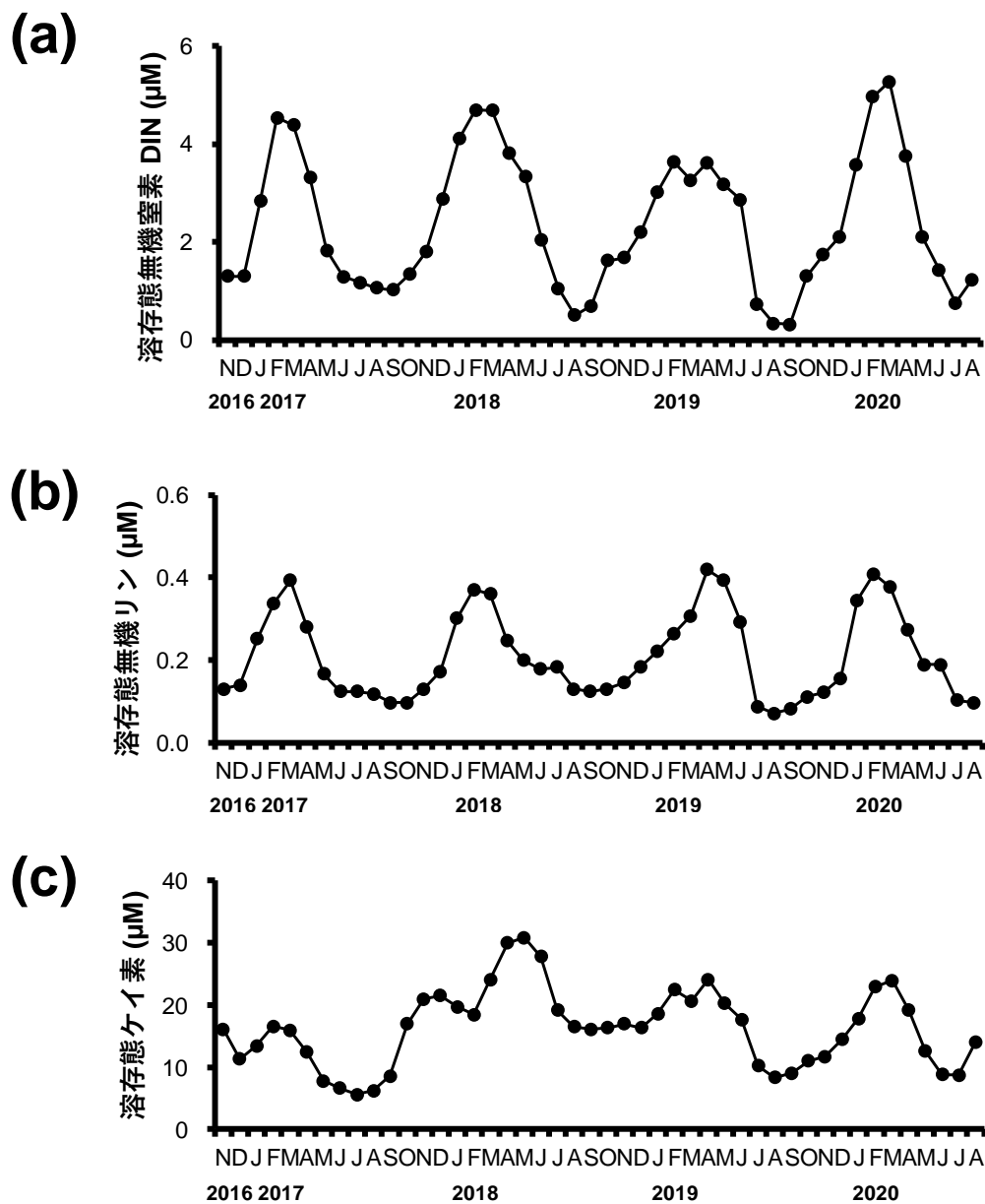


図 2-7. 女川湾竹浦における水質パラメータの変動。図はそれぞれ、(a) 溶存態無機窒素濃度、(b) 溶存態無機リン濃度、(c) 溶存態ケイ素濃度の 3 ヶ月移動平均値の推移を表す。

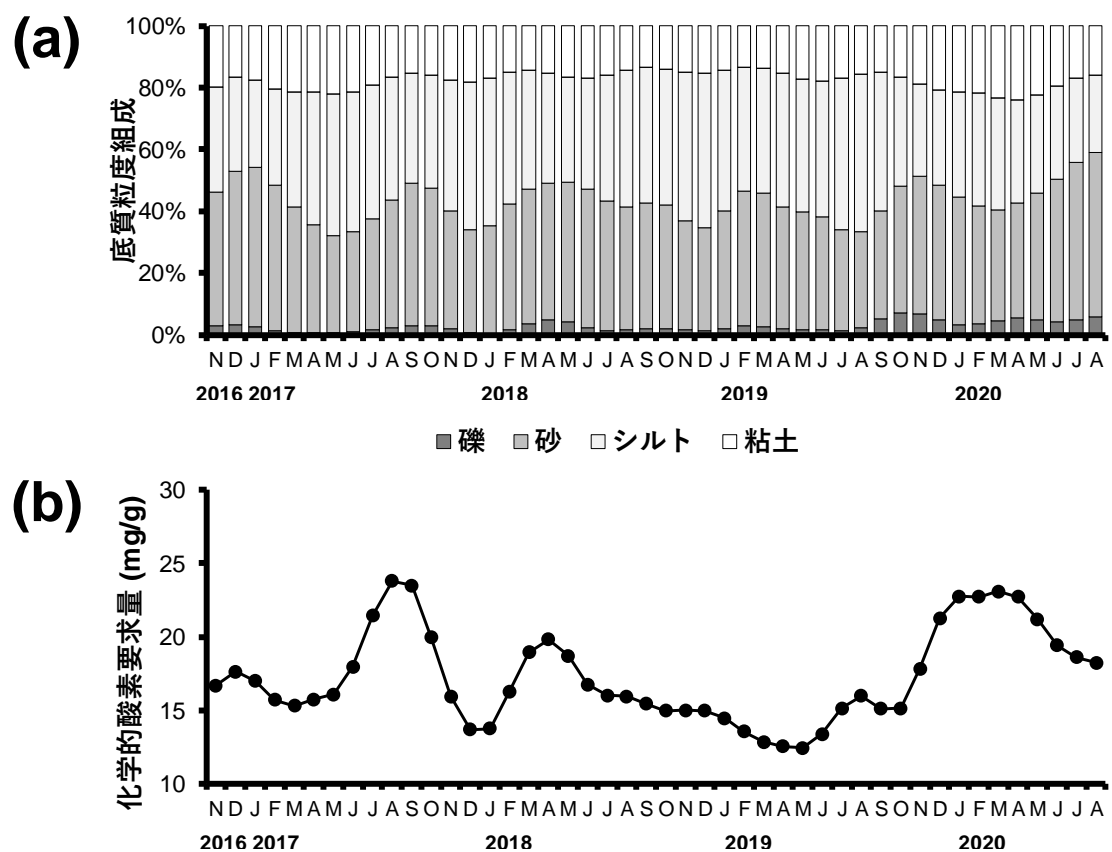


図 2-8. 女川湾竹浦における底質パラメータの変動. 図はそれぞれ, (a) 底質粒度組成, (b) 化学的酸素要求量の 3 ヶ月移動平均値の推移を表す。

栄養塩類濃度は1年周期の季節的変動を示した。クロロフィル *a* 濃度・濁度・底質粒度組成・化学的酸素要求量には周期性が見られなかった。底質粒度組成では、砂・シルトの割合の変動が礫・粘土に比して大きかった。

### 2.3.2. ホンダワラ類の季節消長

ドローンの空中撮影により得られた調査地の画像を並べて示した (図 2-9)。ホンダワラ類の分布する岩礁域に注目すると、6月には海面に林冠部の形成、8月には藻体の流出、12月には次世代の萌芽が確認できた。加速度ロガーによる測定の結果、トゲモク分布域の方が波浪環境が強い傾向が見られた (図 2-10)。1時間毎に測定されたすべてのデータを用いて Student の *t* 検定を行ったところ、加速度の平均値には分布域間で有意差が認められた ( $p < 0.01$ )。

トゲモクの現存量密度および主枝長を示した (図 2-11)。いずれも低水温期の2-5月に極大値をとり、高水温期の8月に極小値をとった。2017年と2018年は、2-5月にはすでに現存量が減少に転じたが主枝長は増加した。2019年と2020年は、6-7月に枠取り調査を行ったが、その時点まで現存量は増加し、主枝長は減少に転じた。

### 2.3.3. 葉上動物の密度変化

トゲモクおよびヨレモクの葉上動物の個体数密度の値を示した (図 2-12)。トゲモクは2018年および2019年の2月、ヨレモクは2019年の2月にソコミジンコ類の個体数密度が増加し、これによって総個体数密度が2000-5000 ind./g DW に達した。総じて、2-5月にはソコミジンコ類・貝形虫類・線虫類・有孔虫類などのメイオベントスを代表する分類群の個体数密度が増加し、5-8月にはヨコエビ類・ワレカラ類・腹足類・多毛類などのマクロベントス群が増加する傾向が見られた。

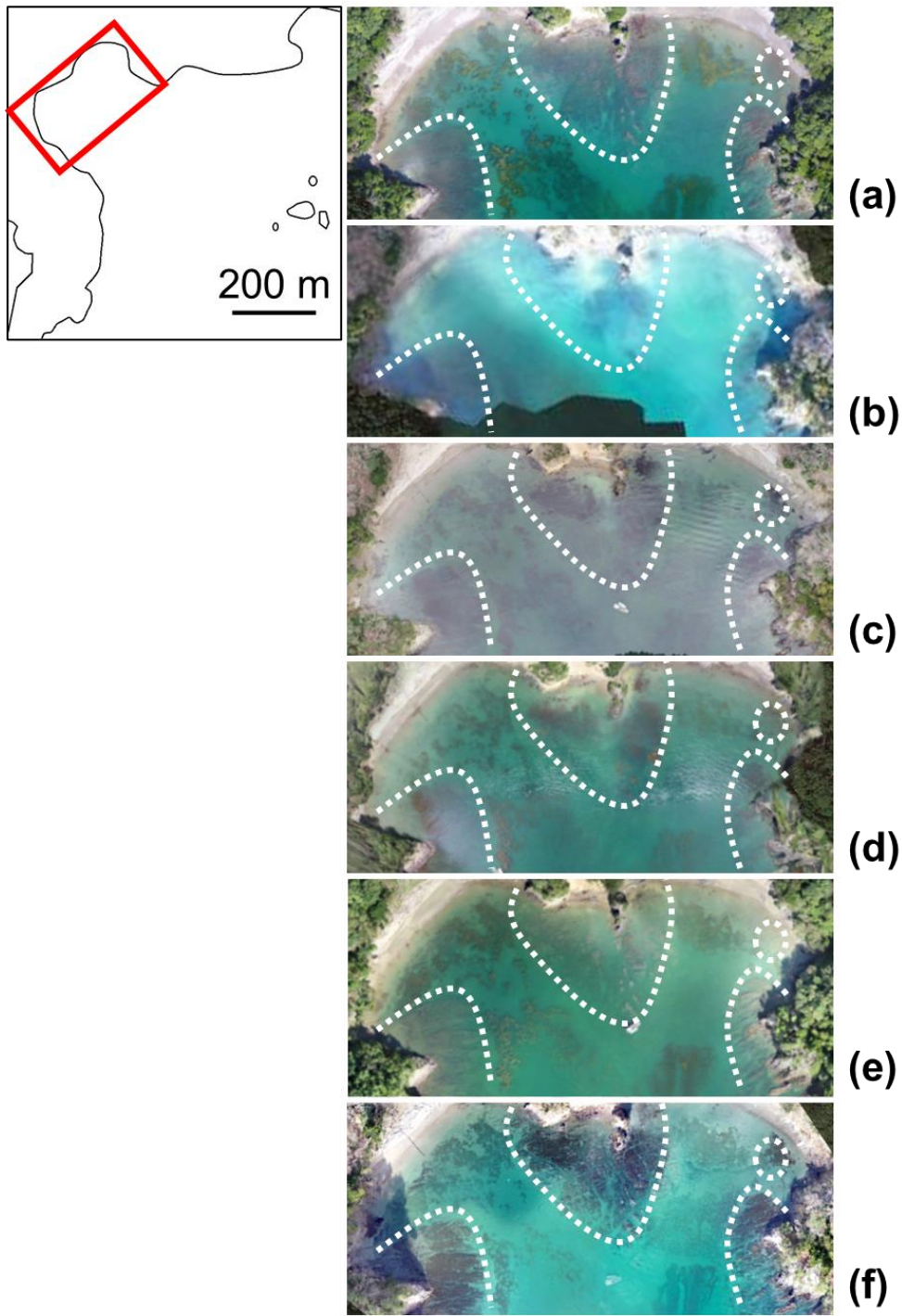


図 2-9. ドローンの空中撮影により得られた調査地の画像の比較. 図はそれぞれ, (a) 2019 年 8 月 1 日, (b) 2019 年 12 月 12 日, (c) 2020 年 3 月 23 日, (d) 2020 年 6 月 11 日, (e) 2020 年 8 月 20 日, (f) 2020 年 12 月 1 日に撮影されたものである。図中, 破線で示したエリアは, ホンダワラ類の生育する岩礁域を表す。

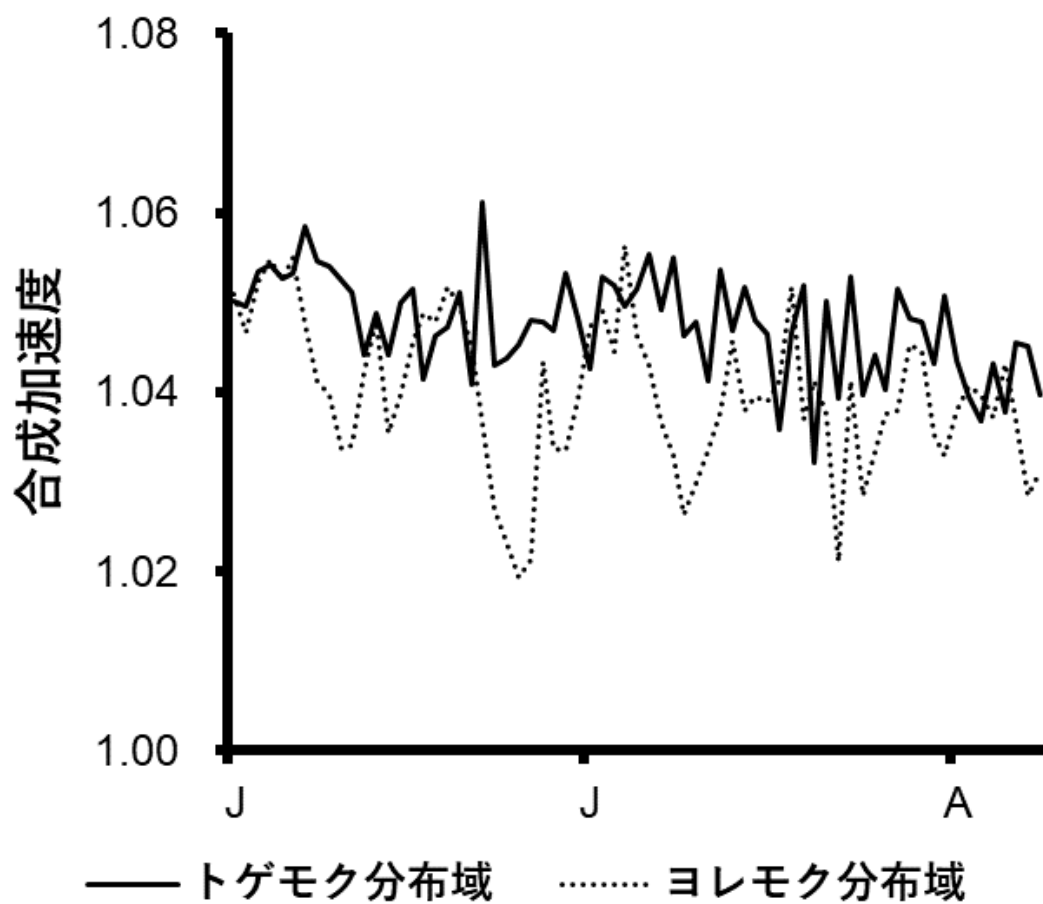


図 2-10. トゲモクおよびヨレモクの分布域における 3 軸加速度 (合成値) の変動.

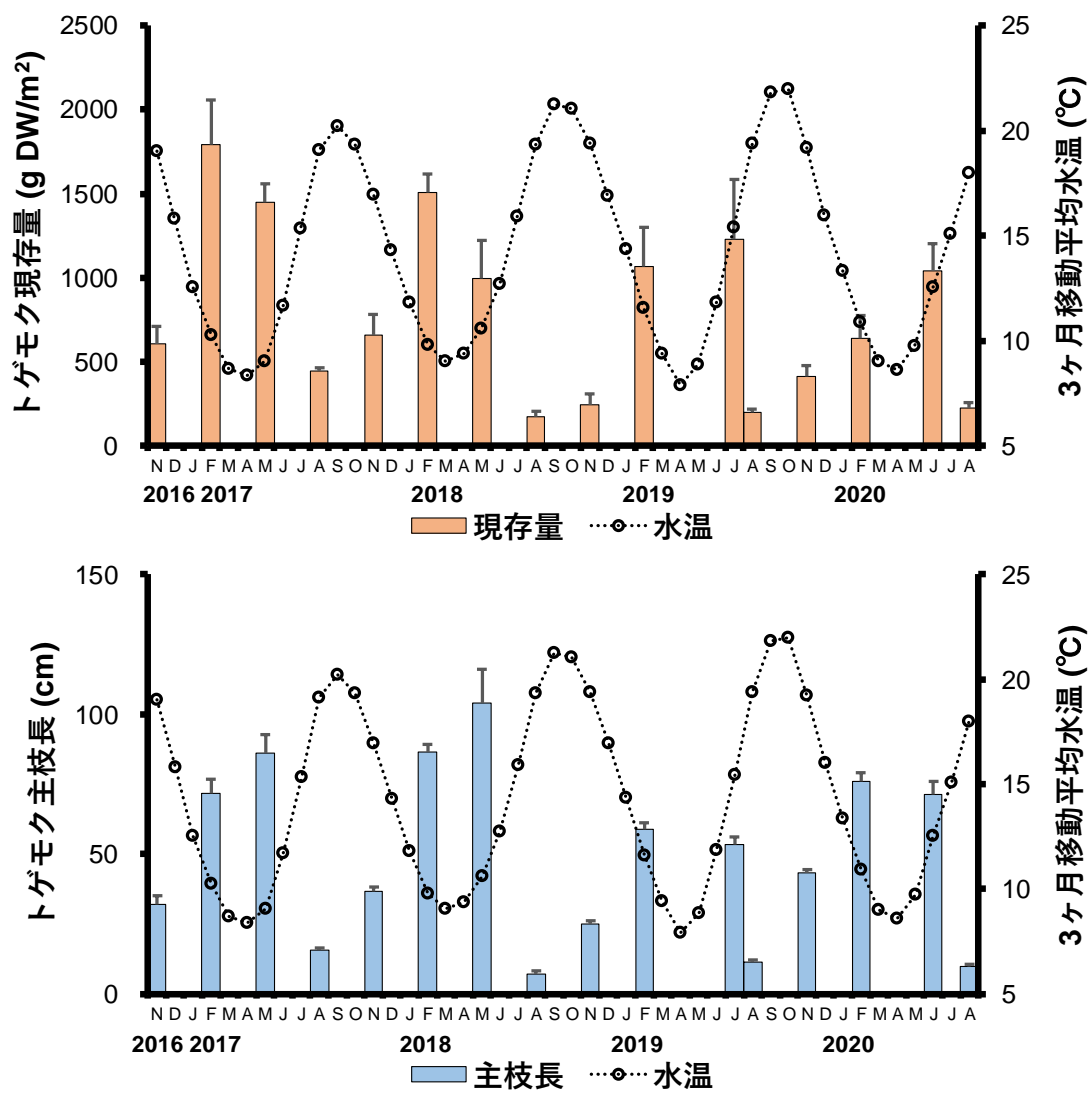


図 2-11. トゲモクの現存量 (上図) および主枝長 (下図) の変化.

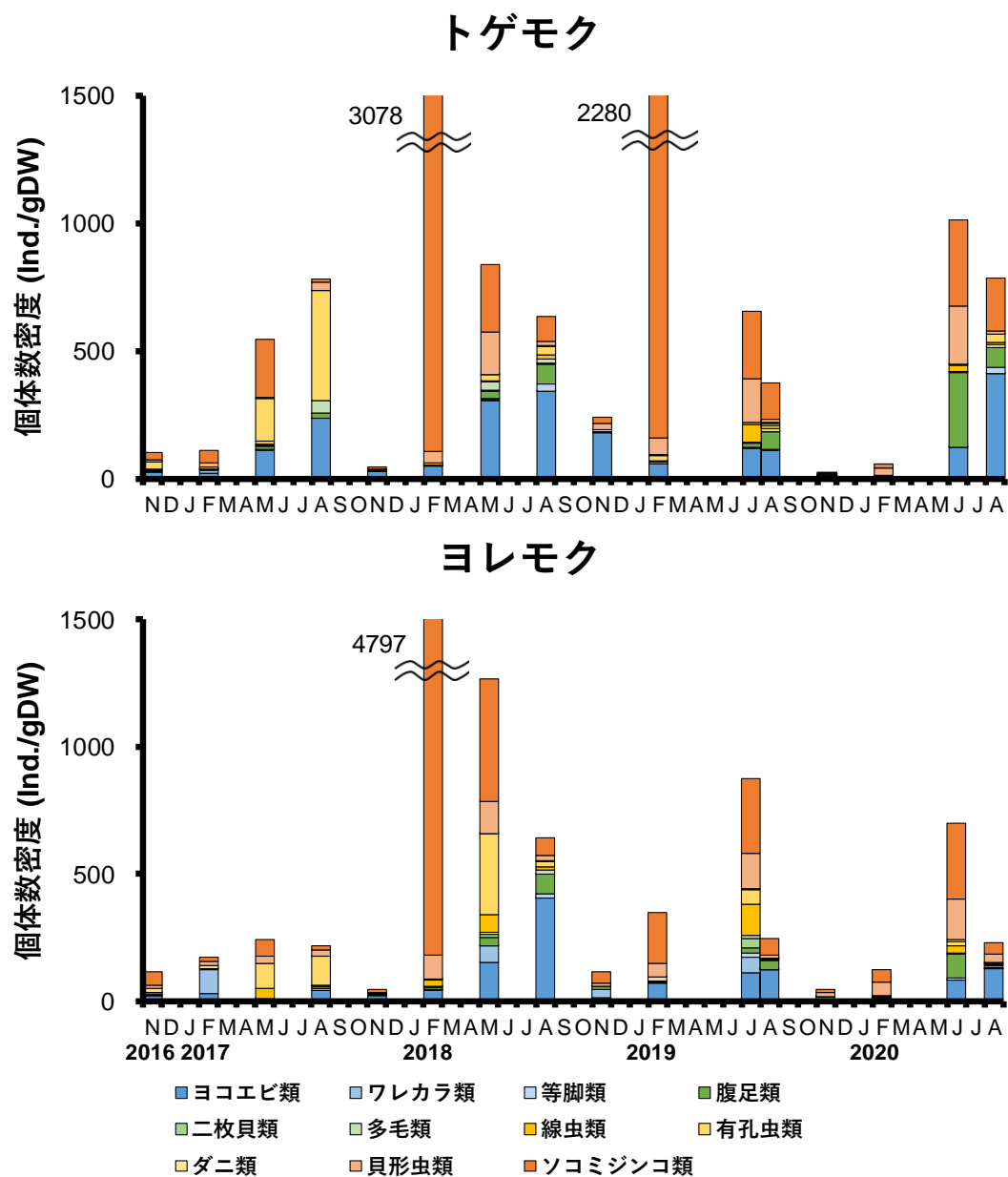


図 2-12. トゲモクおよびヨレモクの葉上動物群集の個体数密度の変化.

現存量密度の値は、主にマクロベントス群の個体数密度の値を反映していた (図 2-13)。総現存量密度は水温上昇に伴って上昇する傾向が見られ、5-8 月はヨコエビ類・ワレカラ類・腹足類・多毛類でその 90% 以上を占めた。ソコミジンコ類が卓越した上述の場合を除き、メイオベントス群の現存量密度の割合はきわめて低かった。

サンプルの総個体数密度に対する総現存量密度の値を片対数グラフに示した (図 2-14)。温帯性ホンダワラ類の一般的なフェノロジー (萌出期：10-12 月，伸長期：1-3 月，肥大型：4-6 月，流出期：7-9 月) によりサンプルを色分けしたところ，萌出期から伸長期は，総現存量密度 20 mg/g DW 未満で総個体数密度が 10-10000 ind./g DW の間で変動し，肥大型から流出期は，総個体数密度約 1000 ind./g DW 付近で総現存量密度が 20-120 mg/g DW の間で変動した。以上の結果から，萌出期から伸長期はメイオベントス群が総個体数密度の増加，肥大型から流出期はマクロベントス群が総現存量の増加にそれぞれ寄与していることが示唆された。

#### 2.3.4. 類似度に基づく群分類

サンプル間の類似度に基づくクラスター分析および nMDS を行った (図 2-15)。類似度 70% で 6 つの群集構造 (A-F) に分かれた。それぞれを構成する基質海藻のフェノロジーは，A：萌出期，B：萌出期，C：萌出期・伸長期，D：流出期，E：肥大型・流出期，F：伸長期・肥大型であった。基質海藻のフェノロジー (4 水準：萌出期・伸長期・肥大型・流出期) および海藻種 (2 水準：トゲモク・ヨレモク) を独立変数とした二元配置の類似度行列分析 (ANOSIM) の結果，フェノロジー間には有意差が見られた (Global  $R = 0.551$ ,  $p = 0.001$ ) が，海藻種間では見られなかった (Global  $R = -0.059$ ,  $p > 0.05$ ) (表 2)。フェノロジー水準間で Bonferroni の多重比較を行った結果，肥大型と流出期との間を除くすべての組み合わせに有意差が認められた ( $p < 0.05$ )。



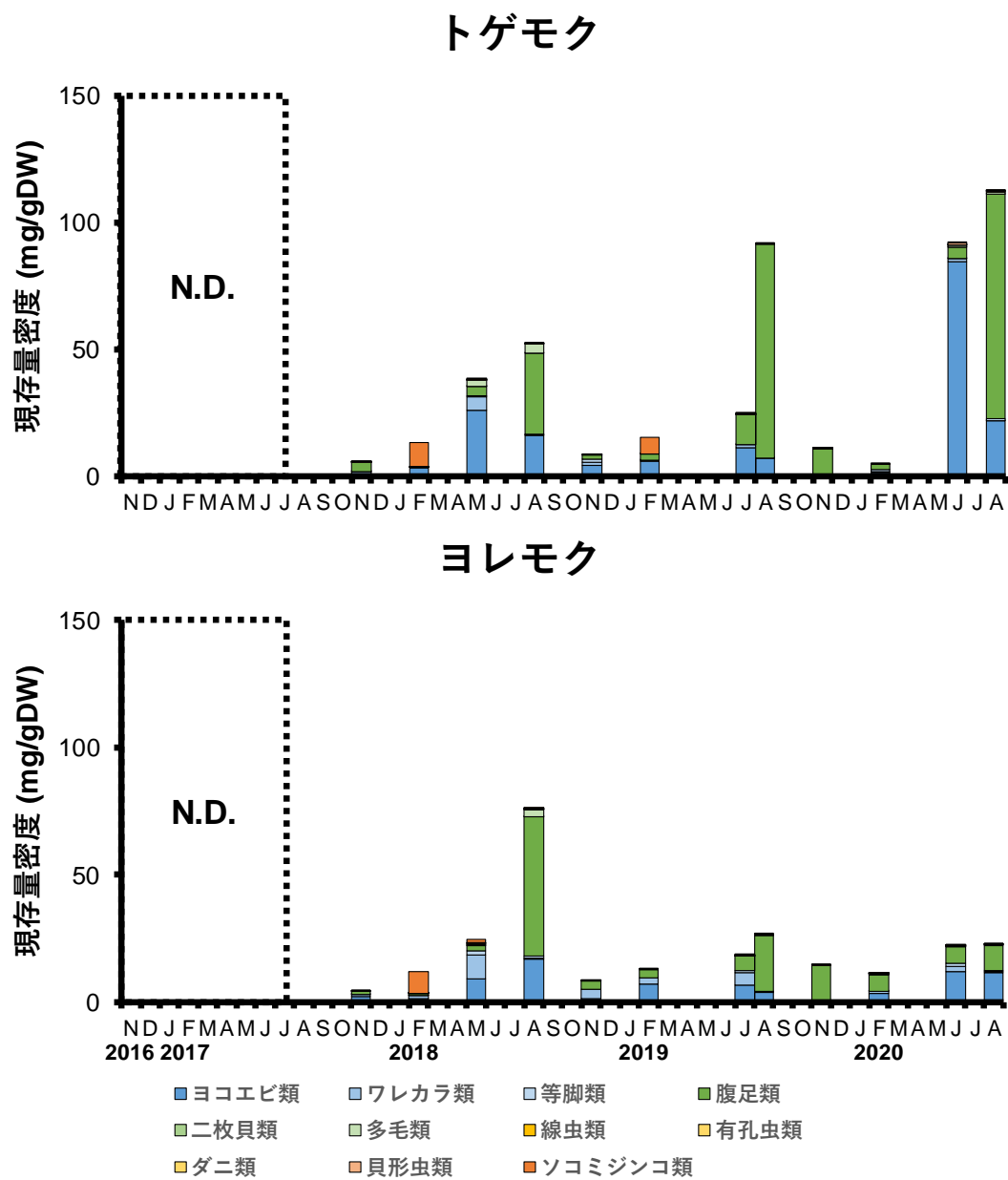


図 2-13. トゲモクおよびヨレモクの葉上動物群集の現存量密度の変化. (N.D. : データなし)

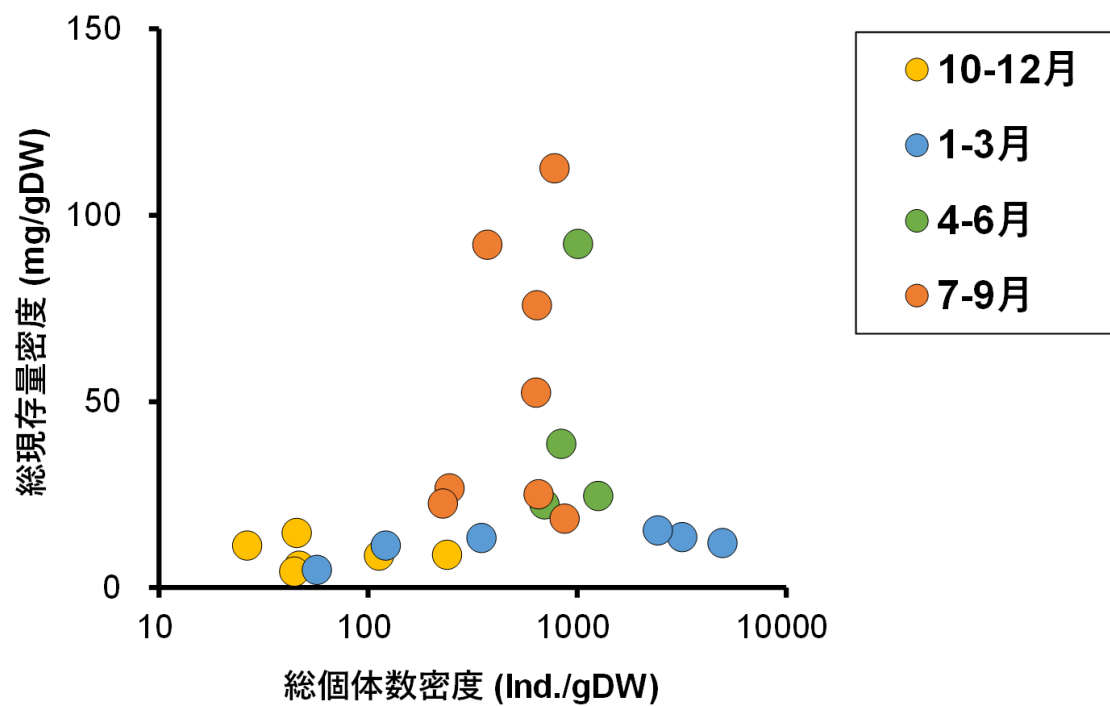


図 2-14. ホンダワラ類の葉上動物群集の総個体数密度と総現存量密度の関係. 各プロットは, ホンダワラ類のフェノロジー (萌出期: 10-12 月, 伸長期: 1-3 月, 肥大型: 4-6 月, 流出期: 7-9 月) に応じて色分けしたサンプルを表す。

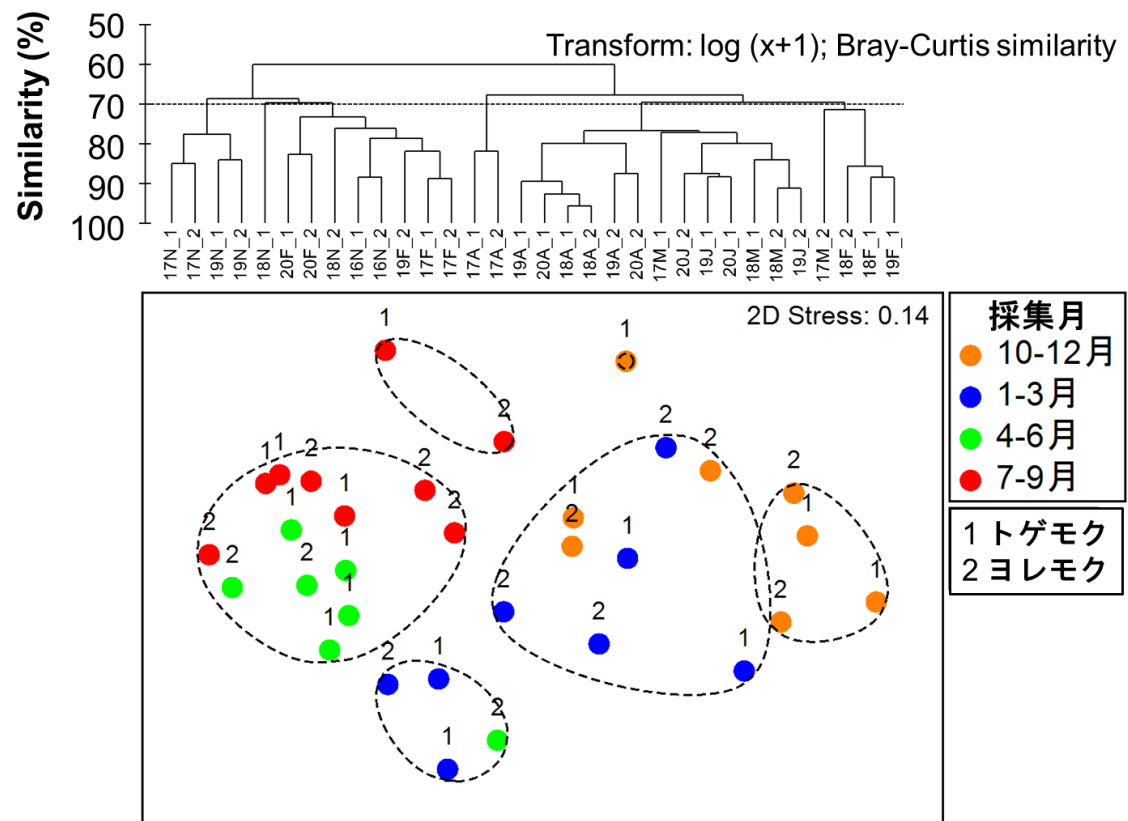


図 2-15. ホンダワラ類の葉上動物群集についての、クラスター分析 (上図) および nMDS (下図) の結果. 上図のサンプル名は, 採集年下 2 桁, 採集月の英名頭文字, 海藻種 (トゲモク : 1, ヨレモク : 2) で表した. 下図の各プロットは, ホンダワラ類のフェノロジー (萌出期 : 10-12 月, 伸長期 : 1-3 月, 肥大期 : 4-6 月, 流出期 : 7-9 月) に応じて色分けしたサンプルを表す.

表 2. 葉上動物の群集構造の Bray-Curtis 類似度に対する ANOSIM の結果. 有意差が見られたフェノロジーについては, 水準間で Bonferroni の多重比較検定を行った ( $p < 0.05$  : \*,  $p < 0.01$  : \*\*). 各ローマ数字は, 採集月に対応するホンダワラ類のフェノロジー (10–12 月の萌出期 : I, 1–3 月の伸長期 : II, 4–6 月の肥大型 : III, 7–9 月の流出期 : IV) を表す。

	<i>R</i> 値	<i>p</i> 値
基質海藻の種	−0.059	0.731
基質海藻のフェノロジー	0.551	0.001
I vs. II**	0.380	0.013
I vs. III**	0.909	0.001
I vs. IV**	0.774	0.001
II vs. III*	0.485	0.004
II vs. IV**	0.624	0.001
III vs. IV	−0.199	0.081

トゲモクおよびヨレモクのソコミジンコ類形態群の相対個体数密度の変化と、その組成の類似度に基づくクラスター分析の結果を示した (図 2-16)。両種とも萌出期・流出期は、卵形・楕円形のスイツキミジンコ類や円筒形のソコミジンコ類の割合が優占して多様度が高く、伸長期から肥大型は紡錘形や円筒形のソコミジンコ類が優占して多様度が低下する傾向が見られた。肥大型のヨレモクでは、とくに円筒形の割合がトゲモクより高かった。クラスター分析と ANOSIM の結果、類似度 70% で分かれた群集構造はフェノロジー間だけでなく海藻種間でも有意に異なった (フェノロジー :  $\text{Global } R = 0.733, p = 0.001$  ; 海藻種 :  $\text{Global } R = 0.667, p = 0.001$ ) (表 3)。

### 2.3.5. 主成分分析による序列化

群集全体に対する動物分類群の反応を理解するために、主成分分析 (PCA) を行った。得られたモデルは、第 2 主成分までで個体数密度データの分散の合計 61.9% を説明した (表 4)。ホンダワラ類のフェノロジーによる区分では、PCA プロットの第 1 象限には肥大型・流出期、第 2 象限には流出期・萌出期、第 3 象限には萌出期・伸長期、第 4 象限には伸長期・肥大型を中心としたサンプルが配置された (図 2-17)。海藻種毎にまとまる傾向は見られなかった。各動物分類群の個体数密度が増加する向きは、メイオベントス群のソコミジンコ類・貝形虫類・線虫類が第 4 象限方向、マクロベントス群のヨコエビ類・有孔虫類・腹足類・等脚類・多毛類が第 1 象限方向であった。環境パラメータを座標軸上に投影したところ、萌出期・伸長期は塩分・各栄養塩類濃度、伸長期・肥大型はシルト率・溶存酸素濃度・濁度、肥大型・流出期はクロロフィル *a* 濃度、流出期・萌出期は化学的酸素要求量・水温・含礫率・含砂率・クレイ率の増加にそれぞれ対応していた。動物分類群と環境パラメータのベクトルを重ね合わせると、ホンダワラ類のフェノロジーを介した両者の関係性が明らかになった。

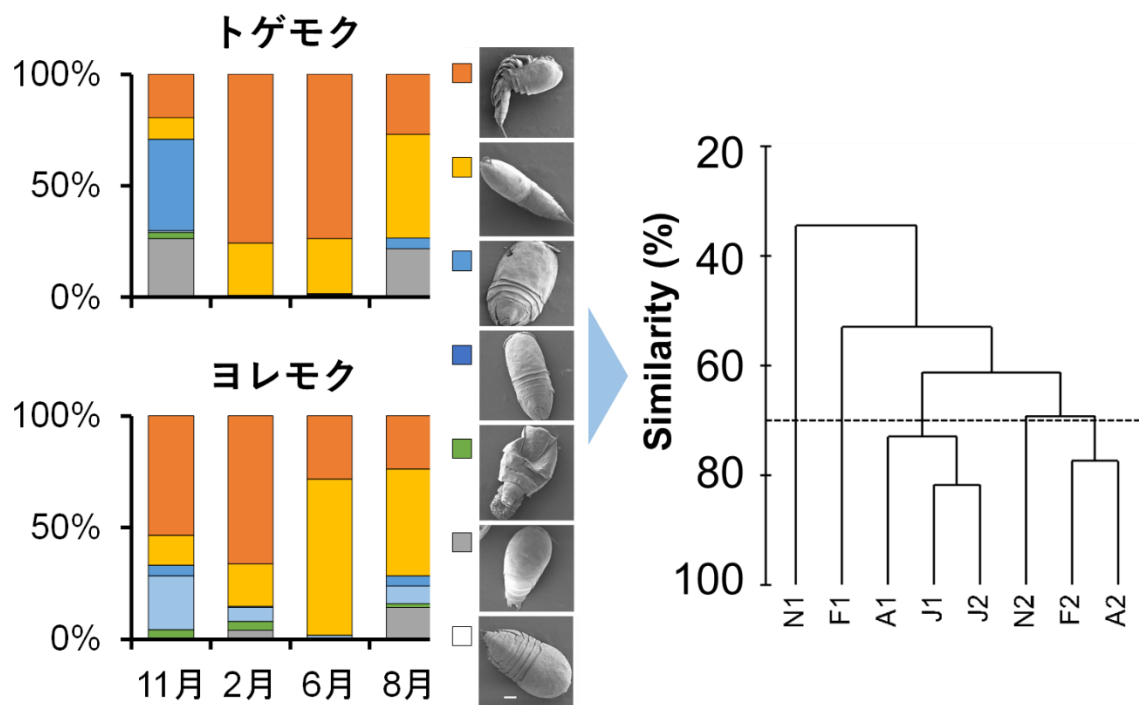


図 2-16. トゲモクおよびヨレモクのソコミジンコ類形態群の相対個体数密度の変化 (左図) とその組成の類似度に基づくクラスター分析の結果 (右図). 右図のサンプル名は, 採集月の英名頭文字, 海藻種 (トゲモク : 1, ヨレモク : 2) で表した。

表 3. ソコミジンコ類の群集構造の Bray-Curtis 類似度に対する ANOSIM の結果. 有意差が見られたフェノロジーについては、水準間で Bonferroni の多重比較検定を行った ( $p < 0.05$  : \*,  $p < 0.01$  : \*\*). 各ローマ数字は、採集月に対応するホンダワラ類のフェノロジー (10–12 月の萌出期 : I, 1–3 月の伸長期 : II, 4–6 月の肥大型 : III, 7–9 月の流出期 : IV) を表す。

	<i>R</i> 値	<i>p</i> 値
基質海藻の種	-0.667	0.001
基質海藻のフェノロジー	0.733	0.001
I vs. II**	0.677	0.003
I vs. III**	0.901	0.001
I vs. IV**	0.807	0.002
II vs. III**	0.833	0.002
II vs. IV**	0.724	0.001
III vs. IV**	0.656	0.005

表 4. ホンダワラ類葉上動物の群集構造に対する主成分分析のサマリー. Inter-set correlations of environmental variables with axis は, 第 1 および第 2 主成分軸に対する各環境パラメータの相関係数を表す。

	Axis 1	Axis 2
Eigenvalues	0.450	0.170
Epifauna-environment correlations	0.947	0.916
Cumulative percentage variance		
of epifaunal data	45.0	61.9
of epifauna-environment relation	50.6	68.5
Inter-set correlations		
of environmental variables with axis		
TEMP	-0.1997	0.6420
SALI	-0.4252	-0.5919
DO	0.5878	-0.1820
CHL	0.1393	0.2682
FTU	0.3429	-0.0305
DIN	-0.2667	-0.6037
DIP	-0.1699	-0.5894
DSi	-0.1135	-0.3195
GRA	-0.0871	0.1511
SAND	-0.0126	0.0498
SILT	0.1010	-0.0963
CLAY	-0.3022	0.0341
COD	-0.0091	0.3721



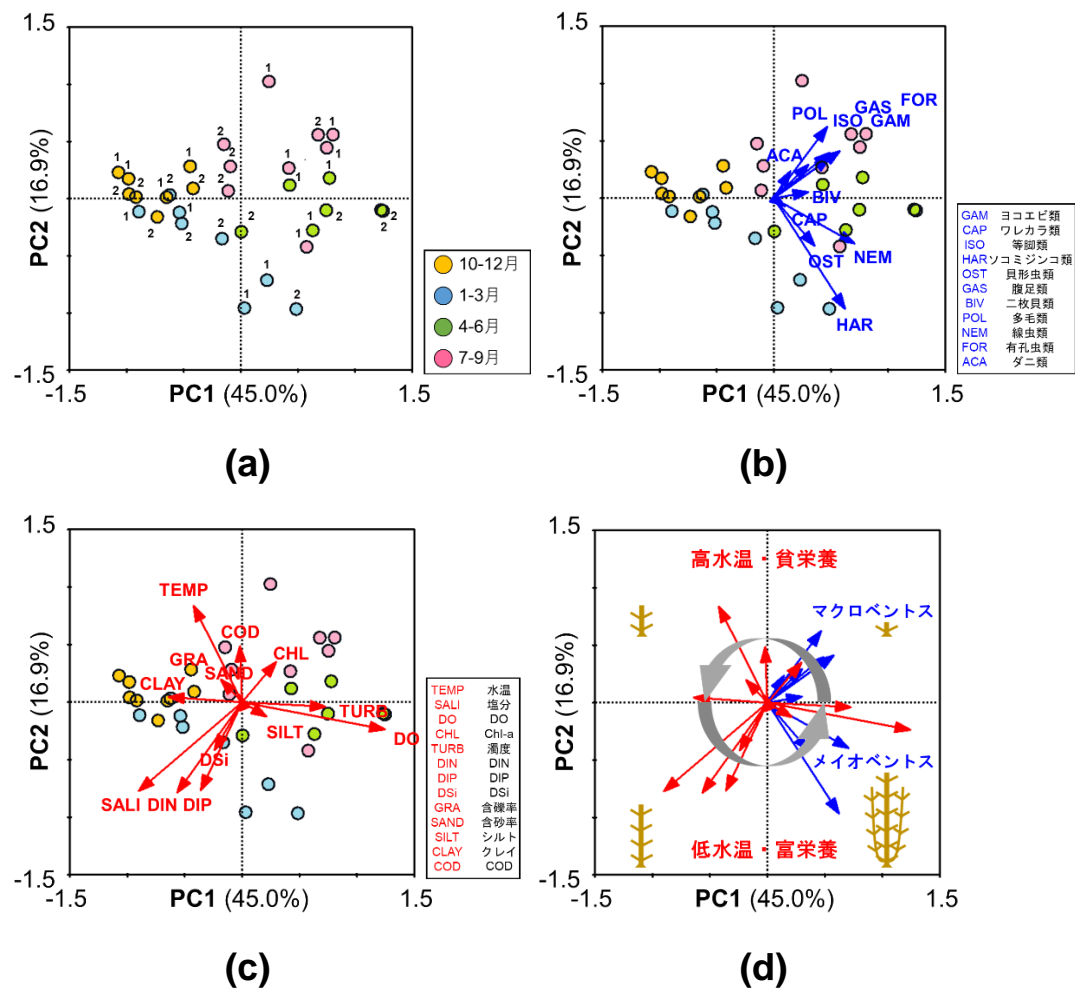


図 2-17. ホンダワラ類葉上動物群集についての主成分分析の結果. 図はそれぞれ (a) ホンダワラ類のフェノロジー (萌出期: 10-12 月, 伸長期: 1-3 月, 肥大期: 4-6 月, 流出期: 7-9 月) に応じて色分けし, 海藻種 (トゲモク: 1, ヨレモク: 2) を付したサンプル, (b) 葉上動物の分類群 (GAM: ヨコエビ類, CAP: フレカラ類, ISO: 等脚類, OST: 貝形虫類, HAR: ソコミジンコ類, GAS: 腹足類, BIV: 二枚貝類, POL: 多毛類, NEM: 線虫類, FOR: 有孔虫類, ACA: ダニ類) の反応, (c) 環境パラメータ (TEMP: 水温, SALI: 塩分, DO: 溶存酸素濃度, TURB: 濁度, CHL: クロロフィル a 濃度, DIN: 溶存態無機窒素, DIP: 溶存態無機リン, DSi: 溶存態ケイ素, GRA: 含礫率, SAND: 含砂率, SILT: 含シルト率, CLAY: 含クレイ率, COD: 底質化学的酸素要求量) の反応, (d) 基質海藻フェノロジーを介した動物分類群と環境パラメータとの関係性を表す。

## 2.4. 考察

### 2.4.1. 群集構造の季節的变化

ホンダワラ類の葉上動物の群集構造は、基質海藻のフェノロジーに応じた季節的な遷移過程を示した。ホンダワラ類の伸長期（2月）から肥大期（5–6月）には、ソコミジンコ類や貝形虫類などのメイオベントス群が優占して総個体数密度が上昇し、肥大期から流出期（7–8月）には、端脚類や腹足類、多毛類などのマクロベントス群が優占して総現存量密度が上昇した。

潮下帯のヒバマタ目褐藻類で、メイオベントスを含む葉上動物の群集構造の季節変化の要因には、基質海藻の季節消長 (Mukai 1971; Sarma 1974; Kito 1975; Gunnill 1983; Curvelo & Corbisier 2000)、葉上藻類の現存量 (Johnson & Scheibling 1987; Jarvis & Seed 1996)、分類群毎の生活史 (Kito 1977; Hicks 1979; Kito 1982) が知られている。ホンダワラ類の葉上動物の群集構造の経時変化を調べた研究では、基質海藻の季節消長はメイオベントスの密度との関係性を示すが、マクロベントスの密度との関係性は見られない (Mukai 1971; Sarma 1974; Kito 1975; Curvelo & Corbisier 2000)。これはメイオベントスの世代交代頻度が相対的に高く (Warwick 1984)、基質海藻の現存量の変動に素早く応じて個体群を成長させられることが考えられる。このため、現存量の季節変動がとくに著しいアカモク *Sargassum horneri* のような一年藻にはソコミジンコ類が卓越しやすく、群集の多様度が低いという報告もある (鈴木ら 2015)。トゲモクとヨレモクはいずれも多年藻であるが、メイオベントスが群集内で早期に優占することは、基質の量的変動に対する反応性の高さで説明できる。ただし、同じ分類群でも種毎の繁殖パターンは異なる (Kito 1977; Hicks 1979; Kito 1982)。本研究の結果は分類群全体の傾向であり、種毎の反応とは区別する必要がある。

ホンダワラ類の肥大期から流出期にかけての総現存量密度の上昇には、ふたつの理由が考えられる。ひとつは、マクロベントスを構成する分類群の体成長である。巻貝類では、葉上生活期間中の体成長に関する研究がある (富田・水島 1984; Ishida et al. 2005; 倉持

2005)。たとえば、ニシキウズガイ科のチグサガイ *Cantharidus japonicus* は4–6月に産卵し (Habe 1960)、殻高 0.5 mm 以下の稚貝が5月あるいは11月に新規加入して 10 mm 以上になるまで1年半以上にわたり葉上生活することが報告されている (倉持 2005)。ヨコエビ類にも、ガラモノネクイムシ属 *Biancolina* のようにホンダワラ類に穿孔して生活する種が知られている (Ishimaru 1996; Poore et al. 2000)。こうしたマクロベントスにとっては基質の安定性が重要であり、基質海藻の量的変動に対する反応性は低いと考えられる。実際に、マクロベントス分類群全体の動態には、ホンダワラ類の季節消長との関係性が見られないという報告がある (布施 1962; Edgar 1983b)。

一方、本研究ではたしかに5–6月から8月にかけてヨコエビ類や腹足類の個体数密度が上昇したが、これに比して総現存量密度の上昇は著しかった。これをすべて新規加入した幼体の体成長によるものとするのは難しい。そこでふたつ目の理由として、葉上動物の垂直分布と採集部位による影響が考えられた。ホンダワラ類葉上動物の垂直分布に関する報告は少ないが、たとえば葉上動物は構造が複雑な藻体上部あるいは最下層に多いことが報告されている (Imada et al. 1981; 藤田ら 2003)。Norton & Benson (1983) は、葉上動物の垂直分布について付着珪藻の量や堆積物の量との関係性を見出している。Ito et al. (2019) はアカモクの葉上動物について、海面の林冠部にソコミジンコ類や二枚貝類の稚貝が多く基部には腹足類が多いことを報告している。また、大型褐藻類の形成する林冠部と林床の小型紅藻群落との間では、葉上動物の群集構造が大きく異なっている (Hirst 2007; Kodama et al. 2017)。メイオベントスは基質の量的変動に対する反応性が高く、マクロベントスより安定した基質に多く分布すると考えると、前者はホンダワラ類藻体の上部に、後者は基部に優占するはずである。また、その垂直分布はホンダワラ類のフェノロジーに伴って次のような季節的变化をすると考えられる：(1) 萌出期：基部にマクロベントスが優占、(2) 伸長期：新しく伸長した基質にメイオベントスが加入優占、(3) 肥大型：基部のマクロベントスが増加し上部で優占、(4) 流出期：藻体上部が流出しマクロベントスの優占する

基部が残存 (図 2-18)。本研究では環境省 (2008) の手法に倣って、葉上動物の採集部位を主枝の先端に限定していた。上の仮説を用いれば、群集構造がメイオベントスからマクロベントスに移行する過程を説明することができる。ただし、これを確かめるためには葉上動物の垂直構造の季節変化を明らかにする必要がある。

#### 2.4.2. 海藻種間での変化

葉上動物の群集構造は、分類群全体では基質海藻種間に違いが見られなかったが、ソコミジンコ類の形態群の組成では海藻種間に差異が認められた。

ソコミジンコ類はメイオベントスを含む海藻の葉上動物群集のなかでもっとも卓越する分類群のひとつである (Mukai 1971; Kito 1975; Hicks 1977a; Johnson & Scheibling 1987; Curvelo & Corbisier 2000)。ホンダワラ類の群落では、海藻 1 株あたり最大で約 10 万個体のソコミジンコ類が出現した例もある (Mukai 1971)。Kito (1975) はフシスジモク *Sargassum confusum* の葉上から一年間で 50 種以上を見出し、葉上動物全体の平均 42% を占めていたことを報告している。ソコミジンコ類の形態は種多様性が高く、一般に表在性種は扁平で大型、間隙性種は円筒形で小型になる傾向があると言われている (Noodt 1971; Bell & Hall 1987; 岩崎 2005)。また、葉上では堆積物の量 (Hicks 1977a, 1980) や食物となる微細藻類および細菌類の量 (Kito 1977; Hicks 1977b, 1979) に応じて、組成や密度が変化することが知られている。本研究でも、トゲモクとヨレモクの波浪環境の違いは葉上の堆積物の量の差異に寄与していたと考えられる。ソコミジンコ類の形態群の組成はこうした葉上環境を反映していた可能性がある。しかし、ホンダワラ類の葉上ソコミジンコ類の研究は Mukai (1971) や Kito (1975) 以降、進展がない。今後、ソコミジンコ類の形態群あるいは分類群毎の環境特性が明らかになれば、それらの組成から葉上の微細環境を知ることができるようになるかもしれない。

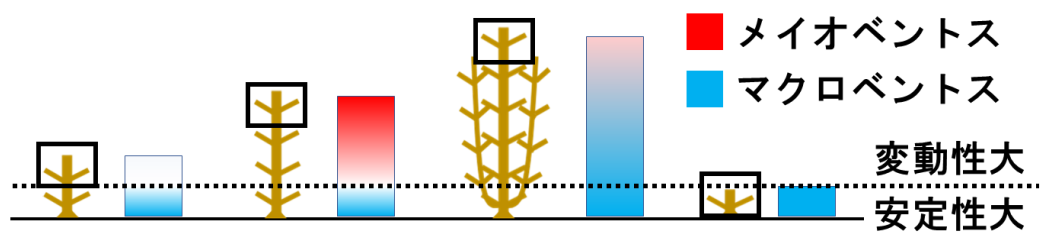


図 2-18. ホンダワラ類葉上動物群集の垂直構造における基質海藻のフェノロジーに応じた季節変化. 図中の黒枠は, 本研究で葉上動物の採集を行った部位を表す。

### 3 章 葉上細菌叢の構造

#### 3.1. 緒言

海藻共生細菌叢を網羅的に明らかにする試みは、最近 10 年間の遺伝子解析技術の進展を背景に精力的になされるようになった。これまでに、アオサ目 (Lachnit et al. 2009, 2011; Tujula et al. 2010; Burke et al. 2011)・コンブ目 (Staufenberger et al. 2008; Lachnit et al. 2009; Bengtsson et al. 2010; Michelou et al. 2013; Marzinelli et al. 2015)・ヒバマタ目 (Lachnit et al. 2009, 2011; Campbell et al. 2015; Mancuso et al. 2016; Serebryakova et al. 2018)・イギス目 (Lachnit et al. 2009)・オゴノリ目 (Lachnit et al. 2011)・カギケノリ目 (Fernandes et al. 2012)・ウシケノリ目 (Miranda et al. 2013) などの海藻で、16S rRNA 遺伝子情報に基づく葉上細菌叢の解析が行われてきた。これらの研究で報告されている細菌分類群は、門や綱などの上位の分類階級の組成では海藻種によらず共通することが多い。たとえば、Proteobacteria・Bacteroidetes・Cyanobacteria・Actinobacteria・Verrucomicrobia・Firmicutes・Fusobacteria・Planktommycetes の 8 門は、緑藻類 (緑色植物門)・褐藻類 (不等毛植物門)・紅藻類 (紅色植物門) のすべてに出現する (Florez et al. 2018)。一方、下位分類階級の組成は基質海藻の健全度 (Campbell et al. 2011, 2015; Fernandes et al. 2012; Marzinelli et al. 2015) やフェノロジー (Staufenberger et al. 2008; Tujula et al. 2010; Bengtsson et al. 2010; Lachnit et al. 2011; Miranda et al. 2013; Michelou et al. 2013; Mancuso et al. 2016; Serebryakova et al. 2018) によって異なる。しかし、ホンダワラ類の葉上細菌叢について調べた研究はほとんどなく (Serebryakova et al. 2018)、群集構造を種間で比較した例もない。

本章では、竹浦のトゲモクおよびヨレモクの葉上細菌について、ホンダワラ類のフェノロジーに応じた 3 つの時期に採集を行った。これにより、群集構造の季節変化を明らかにするとともに、海藻種間での差異の有無を検証することを目的とした。また、前章と同様に、調査地周辺で取得された海洋環境との関係性を明らかにすることも試みた。

## 3.2. 材料と方法

### 3.2.1. 葉上細菌の採集とメタゲノム DNA の抽出

女川湾竹浦沿岸の調査地（第2章）で、トゲモクおよびヨレモクの葉上細菌叢の採集を行った。調査は、温帯性ホンダワラ類のフェノロジーに応じて、2019年11月（萌出期）・2020年2月（伸長期）・2020年6月（肥大期）の計3回行った。当該年度に形成された葉状部の細菌叢を比較するために、越年する基部のみが残る流出期は調査対象から除外した。毎回、それぞれの群落でたがいにより2 m 以上離れた4株を無作為に選び（N=4）、SCUBA潜水により、主枝の先端から目測で約10 cm あたりの葉上細菌を基質海藻ごと採集した。採集時は葉上生物相に影響を与えないように海中で静かに滅菌済みのスクリュウキャップ付き透明プラスチックチューブ（Falcon コニカルチューブ, 50 ml）に収納した。採集後は速やかに海水を排して氷冷下で研究室に持ち帰り、DNA の抽出処理を行うまで -30°C で冷凍保存した。

細菌試料は、採集に用いたプラスチックチューブ中で滅菌済みの人工海水により穏やかに1回リンスし、海水由来の付着微生物と葉上動物を可能な限り除去した。その後、滅菌綿棒（メンティップ病院用綿棒 CTB-1512A, 日本綿棒社）を用いて藻体表面から細菌を採取した。その後、DNA 抽出キット（FastDNA SPIN Kit for Soil, MoBio 社）のプロトコルにしたがって試料から細菌のメタゲノム DNA を抽出した。

### 3.2.2. 細菌 16S rRNA 遺伝子の塩基配列決定

抽出した細菌メタ 16S rRNA 遺伝子の V3-V4 領域を対象とした、アンプリコン PCR を行った。Miseq シーケンス・アダプター付き 341F・806R のユニバーサル・プライマー（Caporaso et al. 2012; Klindworth et al. 2013）を用いて、キット（16S (V3-V4) Metagenomic Library Construction Kit for NGS, タカラバイオ社）のプロトコルにしたがい増幅を行った。得られた産物に対して、TapeStation (D5000, Agilent Technologies 社) によるクオリティ・

チェックを実施した後、磁気ビーズ試薬 (Agencourt AMPure XP, Beckman Coulter 社) のプロトコルにしたがい精製を行った。その後、Index 配列を付加する PCR を行ってライブラリを調整し、次世代シーケンサー (Miseq, Illumina 社) によるシーケンスを行った。本項目の工程は、早稲田大学先端生命医化学センター、ナノ・ライフ創新研究機構に依頼して行った。

### 3.2.3. 塩基配列に基づく系統解析

シーケンスにより得られたリードデータについて、解析ソフト Quantitative Insights Into Microbial Ecology: QIIME v1.7.0 (Caporaso et al. 2010) で前処理を行った。Index およびプライマー配列の除去し、FLASH v1.2.7 (Magoč & Salzberg 2011) によるリード結合、Bokulich et al. (2013) によるクオリティ・フィルタリングを行った。Haas et al. (2011) の手法で検出されたキメラ配列を UCHIME (Edgar et al. 2011) により除去した。前処理の後、UPARSE v7.0.1001 (Edgar 2013) のパイプラインで、類似度 97% 以上の Operational Taxonomic Units: OTU に分類した。データベースの Silva (Quast et al. 2013) をリファレンスとして、Mothur (Schloss et al. 2009) 解析ソフトにより OTU に対する分類群のアノテーションを行った。MUSCLE (Edgar 2004) にしたがって、アノテーションの閾値は 80% とした。本項目の工程は、解析受託サービスの株式会社ケミカル同仁に依頼した。

### 3.2.4. 群集構造の多変量解析

細菌叢の種多様性をサンプル間で比較するために、情報解析により得られた各 OTU の相対存在量 (%) を基に Shannon-Wiener の多様度指数  $H'$  を算出した。海藻種毎に各季節の種数および多様度に対する Tukey-Kramer の多重比較検定を行った。

細菌叢の構造解析は、分類群のまとまりが把握しやすい網の組成データを基に行った。解析に先立ち、細菌相対存在量の値を対数変換し、第 2 章と同様に類似度に基づく群分類



(クラスター分析, nMDS) と序列化手法である主成分分析を行った。クラスター分析は、サンプル間の Bray-Curtis 類似度指数に基づき群平均法で行った。採集時期 (3 水準: 萌出期・伸長期・肥大型) および海藻種 (2 水準: トゲモク・ヨレモク) による差異を二元配置の類似度行列分析 (Analysis of similarities: ANOSIM) (Clarke 1993) により検証した。有意差が見られた要因について、水準間で Bonferroni の多重比較を行った。一定の類似度で分かれた群集構造の非類似度に寄与した分類群を特定するために、類似度百分率分析 SIMPER (Clarke & Gorley 2006) を行った。Mancuso et al. (2016) に倣って、累積寄与率 60% までの分類群を有意に寄与しているものとした。解析には、統計ソフト PRIMER v6 (Clarke & Gorley 2006) を使用した。

主成分分析では、序列化された細菌叢のサンプルと分類群および環境変数との関係性を明らかにするために、それぞれの反応を PCA プロット上に投影した。説明変数に用いた環境パラメータは第 2 章と同様に女川湾定期調査 (Fujii et al. 2019) から引用し、変数変換を処した水質・底質の 3 ヶ月移動平均データを用いた。解析には、統計ソフト CANOCO 4.5 (ter Braak & Smilauer 2002) を使用した。

### 3.3. 結果

#### 3.3.1. 種数および多様度の変化

細菌の種数および多様度はいずれも、トゲモクとヨレモクの両種ともに季節間で有意に異なった (図 3-1)。Tukey-Kramer の多重比較の結果、トゲモクにおける種数および多様度は 6 月で高かった ( $p < 0.01$ )。ヨレモクではすべての月間で異なった ( $p < 0.01$ )。両種とも 6 月の種数および多様度は他の月より高い値を示した。6 月は 11 月の値に比べ、平均種数はトゲモクで約 1.9 倍、ヨレモクで約 1.5 倍、平均多様度はトゲモクで約 1.4 倍、ヨレモクで約 1.2 倍の値を示した。

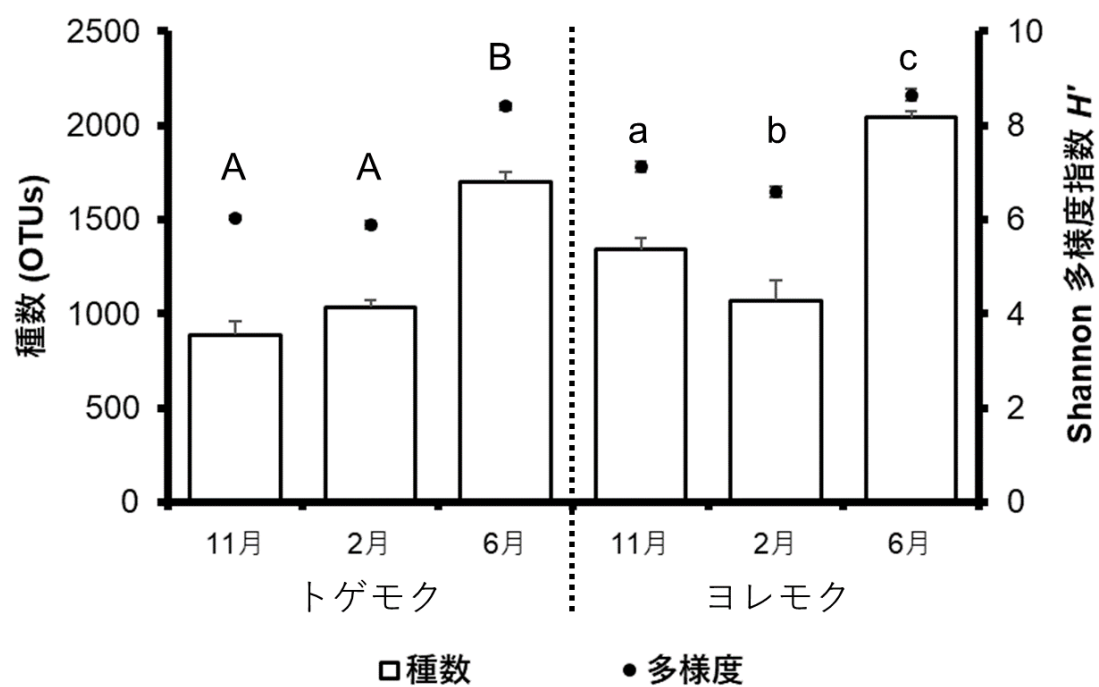


図 3-1. トゲモクおよびヨレモクの葉上細菌の種数および多様度の変化. 海藻種毎の異なるアルファベットは、種数および多様度指数における有意差を表す。

### 3.3.2. 分類階級毎の組成の変化

全体で、46 細菌門から 371 科 246 目 94 綱が同定された (図 3-2)。綱の組成の上位 90% を構成していた 6 綱を示した。両種とも、 $\alpha$ -Proteobacteria および Oxyphotobacteria が優占し、それぞれの割合は 2 月 (5–10%, 約 40%) と 11 月および 6 月 (10–20%, 10–20%) との間で異なった。目の階級で上位 60% を構成していた 7 目を示した。綱で Oxyphotobacteria と同定された分類群は chloroplast であったことが判明し、藍藻類ではなく基質海藻や葉上海藻由来の葉緑体であることが示唆された。科の階級で上位 30% を構成していた 7 科を示した。とくにトゲモクでは、Hyphomonadaceae の割合が 11 月 (約 30%) から 6 月 (約 10%) に減少し、Rhodobacteraceae の割合が 11 月および 2 月 (5–10%) より 6 月 (15–20%) に高くなる傾向が見られた。

### 3.3.3. 類似度に基づく群分類

サンプル間の類似度に基づくクラスター分析・nMDS を行った (図 3-3)。類似度 89% で 6 つの群集構造 (A–F) に分けられた。それぞれを構成する基質海藻のフェノロジーは、A : 伸長期のトゲモク、B : 伸長期のヨレモク・トゲモク、C : 萌出期のヨレモク、D : 萌出期のトゲモク、E : 肥大期のトゲモク、F : 肥大期のヨレモクであった。フェノロジー (4 水準 : 萌出期・伸長期・肥大期・流出期) と海藻種 (トゲモク・ヨレモク) を独立変数とした二元配置の類似度行列分析 (ANOSIM) の結果、いずれの間にも有意差が認められた (フェノロジー : Global  $R = 1, p = 0.001$  ; 海藻種 : Global  $R = 1, p = 0.001$ ) (表 5)。フェノロジー水準間で Bonferroni の多重比較を行った結果、すべての組み合わせに有意差が認められた ( $p < 0.05$ )。

上述の 6 つの群集構造は各海藻種の各時期に対応していたため、それらの間の非類似度は、海藻種毎の時間変化と季節毎の種間変化を表すと言える。SIMPER 解析の結果を表 6 に示した。トゲモクのフェノロジー間の違いに寄与した累積寄与率 60% までの細菌群

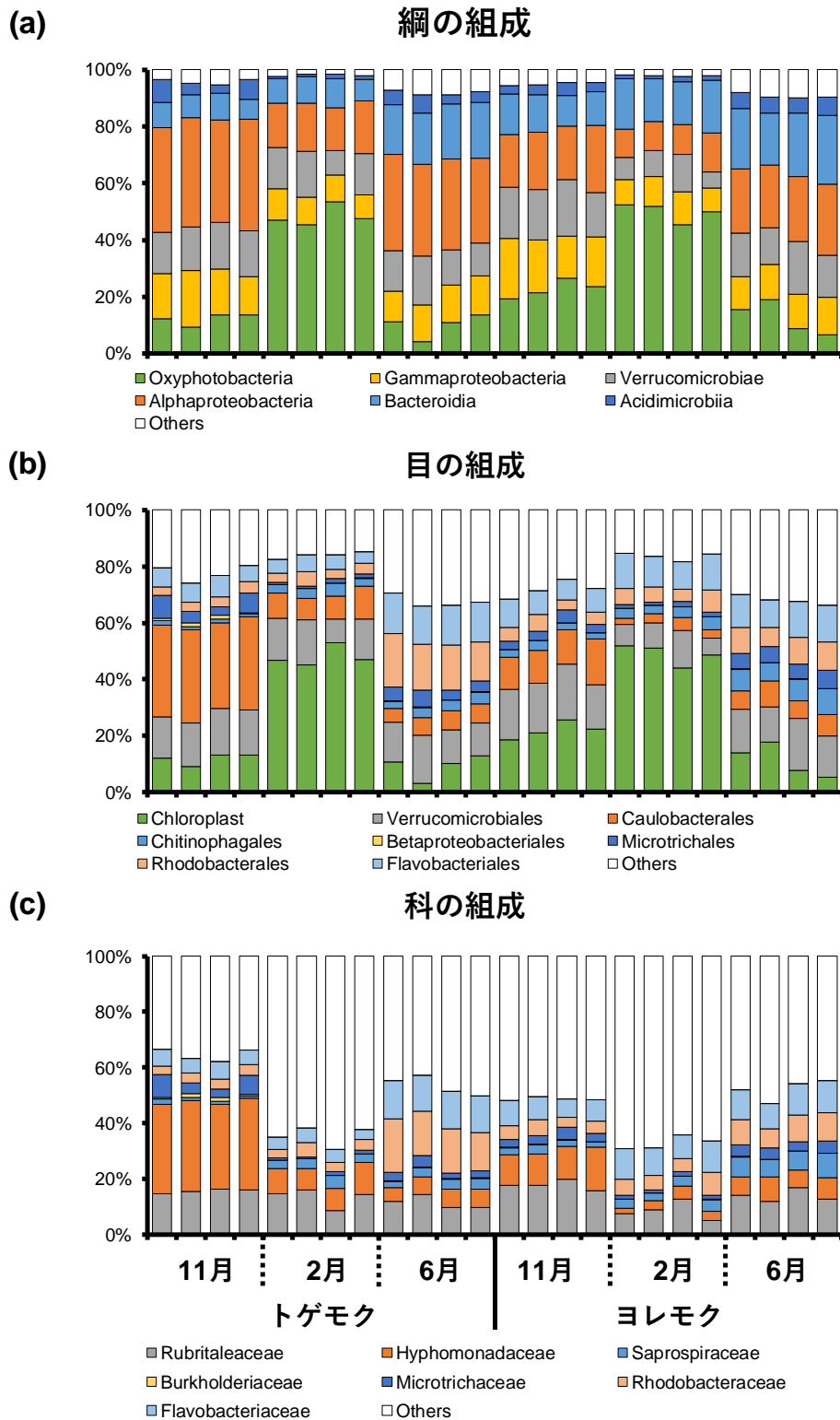


図 3-2. 葉上細菌叢の分類群組成. 図はそれぞれ, (a) 網 (上位 90%), (b) 目 (60%), (c) 科 (30%) を構成する細菌分類群の組成を表す。

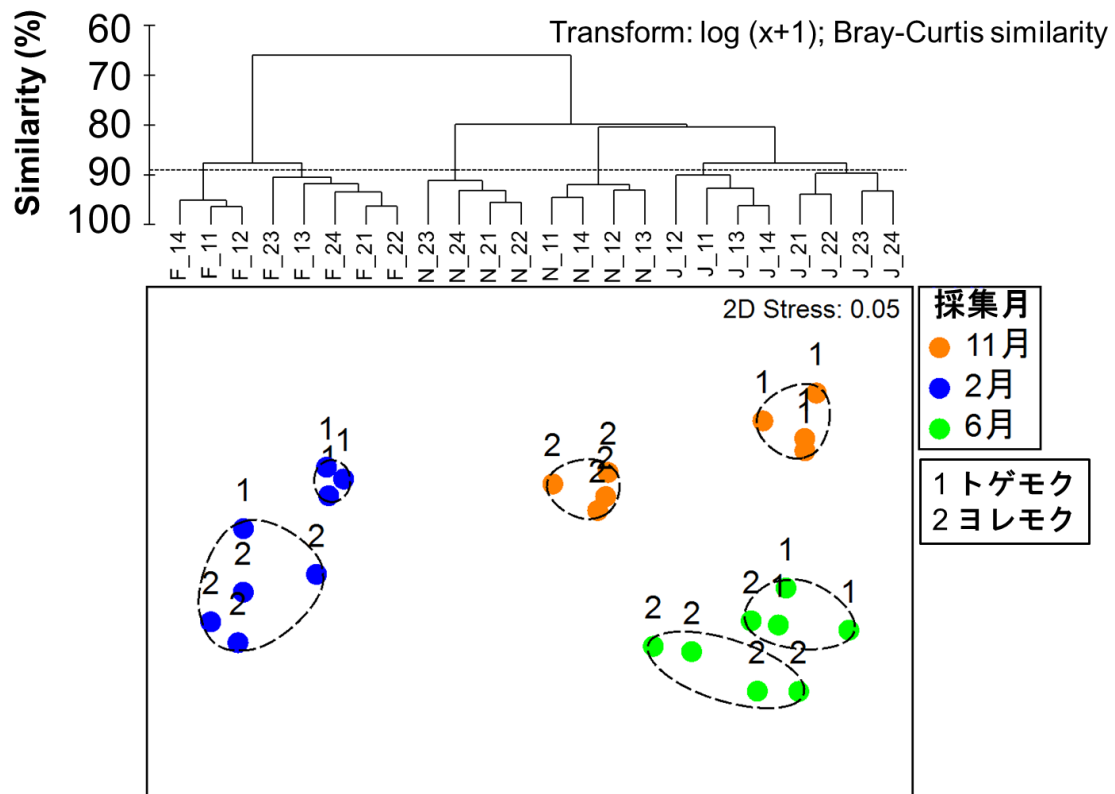


図 3-3. ホンダワラ類の葉上細菌叢についてのクラスター分析 (上図) および nMDS (下図) の結果. 上図のサンプル名は, 採集月の英名頭文字, 海藻種 (トゲモク : 1, ヨレモク : 2) と反復数 (1-4) で表した。下図の各プロットは, ホンダワラ類のフェノロジー (萌出期 11 月・伸長期 2 月・肥大期 11 月) に応じて色分けしたサンプルを表す。

表 5. ホンダワラ類葉上細菌叢の群集構造の Bray-Curtis 類似度に対する ANOSIM の結果. 有意差が見られたフェノロジーについては, 水準間で Bonferroni の多重比較検定を行った ( $p < 0.05$  : \*,  $p < 0.01$  : \*\*). 各ローマ数字は, 採集時期に対応する基質海藻フェノロジー (I : 萌出期 11 月, II : 伸長期 2 月, III : 肥大期 6 月) を表す。

	<i>R</i> 値	<i>p</i> 値
基質海藻の種	-0.667	0.001
基質海藻のフェノロジー	0.733	0.001
I vs. II*	0.677	0.003
I vs. III**	0.901	0.001
II vs. III**	0.807	0.002

表 6. ホンダワラ類の葉上細菌叢に対する SIMPER 解析の結果.

Species	Av.Abund		Av.Diss	Diss/SD	Contr (%)
<b>トゲモク</b>	<b>11月</b>	<b>2月</b>	<b>32.14</b>		
Oxyphotobacteria	0.12	0.38	14.94	14.75	46.48
Alphaproteobacteria	0.32	0.16	9.05	11.09	28.16
	<b>2月</b>	<b>6月</b>	<b>35.69</b>		
Oxyphotobacteria	0.38	0.09	16.01	8.28	44.85
Alphaproteobacteria	0.16	0.28	6.67	7.64	18.69
<b>ヨレモク</b>	<b>11月</b>	<b>2月</b>	<b>28.75</b>		
Oxyphotobacteria	0.20	0.41	11.40	6.97	39.65
Verrucomicrobiae	0.16	0.09	4.37	2.95	15.20
Alphaproteobacteria	0.19	0.11	4.07	2.86	14.15
	<b>2月</b>	<b>6月</b>	<b>35.54</b>		
Oxyphotobacteria	0.41	0.12	16.26	5.81	45.76
Alphaproteobacteria	0.11	0.21	5.33	4.49	15.00
<b>11月</b>	<b>トゲモク</b>	<b>ヨレモク</b>	<b>20.49</b>		
Alphaproteobacteria	0.32	0.19	7.33	6.85	35.75
Oxyphotobacteria	0.12	0.20	4.87	3.26	23.77
Bacteroidia	0.08	0.12	2.05	2.51	10.02
<b>2月</b>	<b>トゲモク</b>	<b>ヨレモク</b>	<b>12.38</b>		
Bacteroidia	0.08	0.14	3.44	2.16	27.78
Verrucomicrobiae	0.14	0.09	3.13	2.25	25.31
Alphaproteobacteria	0.16	0.11	2.55	2.02	20.61
<b>6月</b>	<b>トゲモク</b>	<b>ヨレモク</b>	<b>12.37</b>		
Alphaproteobacteria	0.28	0.21	3.74	4.68	30.23
Oxyphotobacteria	0.09	0.12	2.77	1.64	22.36
Bacteroidia	0.17	0.19	1.39	1.64	11.25

は、萌出期から伸長期：Oxyphotobacteria (46.48%)・ $\alpha$ -Proteobacteria (28.16%)；伸長期から肥大型：Oxyphotobacteria (44.85%)・ $\alpha$ -Proteobacteria (18.69%)、ヨレモクでは、萌出期から伸長期：Oxyphotobacteria (39.65%)・Verrucomicrobiae (15.20%)・ $\alpha$ -Proteobacteria (14.15%)；伸長期から肥大型：Oxyphotobacteria (45.76%)・ $\alpha$ -Proteobacteria (15.00%)であった。各季節における海藻種間の違いに寄与した累積寄与率 60% までの細菌群は、

萌出期： $\alpha$ -Proteobacteria (35.75%)・Oxyphotobacteria (23.77%)・Bacteroidia (10.02%)

伸長期：Bacteroidia (27.78%)・Verrucomicrobiae (25.31%)・ $\alpha$ -Proteobacteria (20.61%)

肥大型： $\alpha$ -Proteobacteria (30.23%)・Oxyphotobacteria (22.36%)・Bacteroidia (11.25%)

であった。

#### 3.3.4. 主成分分析による序列化

主成分分析により得られたモデルは、第 2 主成分までで細菌相対存在量データの分散の合計 93.6% を説明した (表 7)。ホンダワラ類のフェノロジーによる区分では、プロットの第 1 象限には伸長期のトゲモク、第 2 象限には萌出期のトゲモク、第 3 象限には肥大型のトゲモク・ヨレモク、第 4 象限には伸長期のヨレモク、そして中央付近には萌出期のヨレモクのサンプルがそれぞれ配置された (図 3-4)。サンプルの配置から、海藻種間での非類似性は、萌出期 > 伸長期 > 肥大型の順に高いことが示唆された。環境パラメータを座標軸上に重ねて投影すると、萌出期は水温・含礫率、伸長期は各栄養塩類濃度・塩分・クロロフィル *a* 濃度、肥大型は濁度とそれぞれ関係性が見られた。

### 3.4. 考察

#### 3.4.1. 群集構造の季節的变化

ホンダワラ類の葉上細菌叢の群集構造は、基質海藻のフェノロジーに応じた季節変化を示した。萌出期の 11 月には  $\alpha$ -Proteobacteria が優占していたが、伸長期の 2 月には基質や



表 7. ホンダワラ類葉上細菌叢の群集構造に対する主成分分析のサマリー. Inter-set correlations of environmental variables with axis は、第 1 および第 2 主成分軸に対する各環境パラメータの相関係数を表す。

	Axis 1	Axis 2
Eigenvalues	0.384	0.371
Bacteria-environment correlations	0.851	0.960
Cumulative percentage variance		
of bacteria data	38.4	75.5
of bacteria-environment relation	43.4	96.7
Inter-set correlations		
of environmental variables with axis		
TEMP	0.7362	0.4063
SALI	0.1809	-0.9522
DO	-0.7911	-0.2737
CHL	0.3478	-0.9072
FTU	-0.7300	0.5641
DIN	-0.0647	-0.9469
DIP	-0.3908	-0.8104
DSi	0.0444	-0.9592
GRA	0.6932	0.4856
SAND	0.0104	0.9550
SILT	-0.2012	-0.9090
CLAY	-0.3155	-0.8566
COD	-0.4381	-0.7760

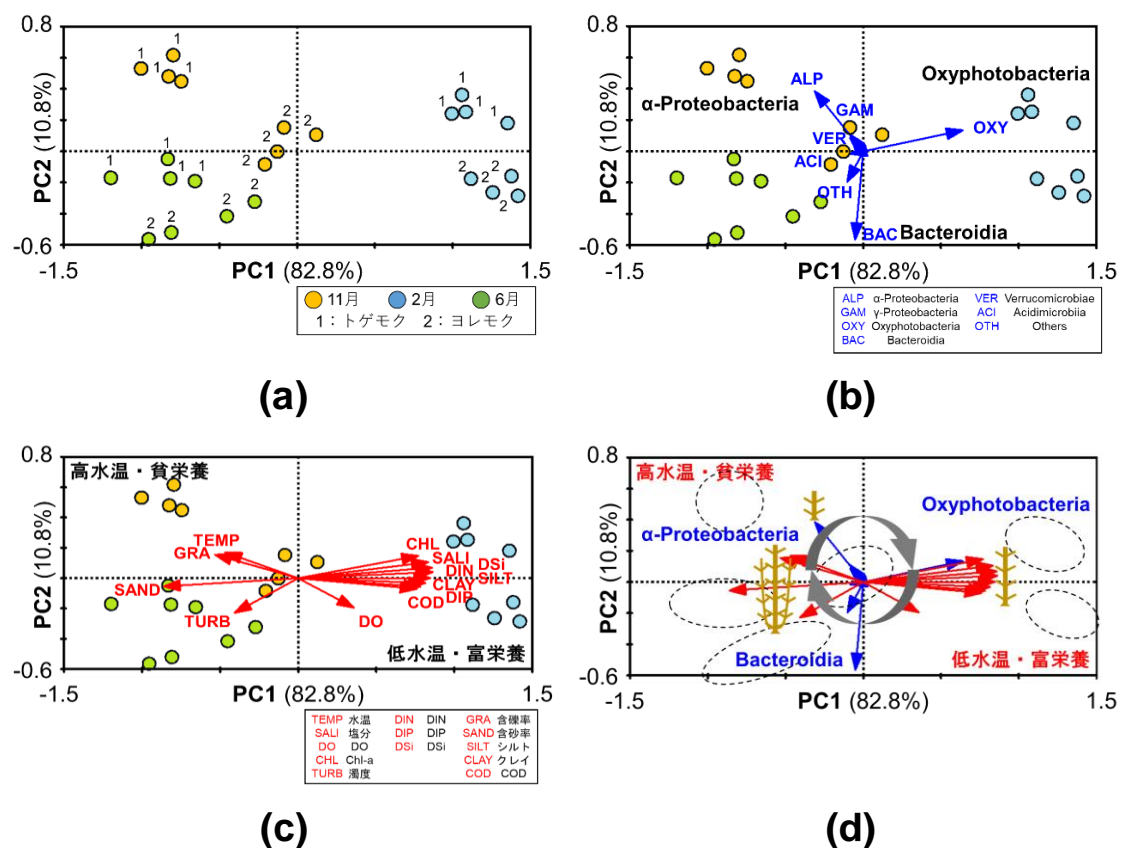


図 3-4. ホンダワラ類の葉上細菌叢についての主成分分析の結果. 図はそれぞれ, (a) 基質海藻のフェノロジー (萌出期 11 月, 伸長期 2 月, 肥大期 6 月) に応じて色分けし, 海藻種 (トゲモク : 1, ヨレモク : 2) を付したサンプル, (b) 葉上細菌の分類群 (ALP :  $\alpha$ -Proteobacteria, GAM :  $\gamma$ -Proteobacteria, OXY : Oxyphotobacteria, BAC : Bacteroidia, VER : Verrucomicrobiae, ACI : Acidimicrobiia, OTH : Others) の反応, (c) 環境パラメータ (TEMP : 水温, SALI : 塩分, DO : 溶存酸素濃度, TURB : 濁度, CHL : クロロフィル *a* 濃度, DIN : 溶存態無機窒素, DIP : 溶存態無機リン, DSI : 溶存態ケイ素, GRA : 含磷率, SAND : 含砂率, SILT : 含シルト率, CLAY : 含クレイ率, COD : 底質化学的酸素要求量) の反応, (d) 基質海藻フェノロジーを介した細菌分類群と環境パラメータとの関係性を表す.

葉上の海藻由来と考えられる *Oxyphotobacteria* の割合が増加した。肥大型の 6 月には  $\alpha$ -*Proteobacteria* や *Bacteroidia* が優占して細菌叢の多様度が上昇した。とくに *Bacteroidia* はヒト腸内細菌叢における最優占群のひとつであり、嫌気性細菌群で構成されている。ホンダワラ類や近縁のウガノモク類の葉上細菌叢の季節変化を調べた研究では、繁殖後の基質海藻の劣化に伴って、組織の分解に関わる細菌群の割合が増加したことも報告されている (Mancuso et al. 2016; Serebryakova et al. 2018)。これらのことから、*Bacteroidia* の増加は葉上環境の悪化を示唆している可能性がある。そこで海藻の疾病に関わる細菌をレビューした Egan et al. (2014) を参照し、これに掲載されている細菌種を含む分類群 (科) を潜在的病原性細菌群として、その割合の変化を示した (図 3-5)。その結果、通性嫌気性の紅色細菌群 *Rhodobacteraceae* と、魚類などの病原体として知られる *Flavobacteriaceae* が優占し、それらの割合が肥大型に増加する傾向が見られた。Egan & Gardiner (2016) と Bass et al. (2019) によれば、葉上には日和見的な病原細菌類が常在しており、これらが増加すると、環境中から新たな病原体が二次・三次的に加入して基質組織の劣化が加速されと考えられる。つまり、*Rhodobacteraceae* や *Flavobacteriaceae* などの常在細菌群の割合の変化は、藻体が劣化する初期の遷移過程を表している可能性がある。今後はとくに、肥大型から流出期にいたる葉上細菌叢の変化が詳細に明らかにすることで、ホンダワラ類の枯死・流出過程に対する理解が深まるはずである。

#### 3.4.2. 海藻種間での変化

ホンダワラ類の葉上細菌叢にはトゲモクとヨレモクの海藻種間でも差異が認められた。第 2 章の結果から、両種は調査地に同所的に生育するが、それぞれの分布域の波浪環境は異なっている。しかし、葉上細菌叢の構造は環境条件の違いよりも基質海藻の性質や状態によって変化するという報告があり (Martinelli et al. 2015)、本章の結果には波浪環境以外の要因も考えられる。たとえばそれぞれの種に含まれる化学的成分の違いが考えられる。

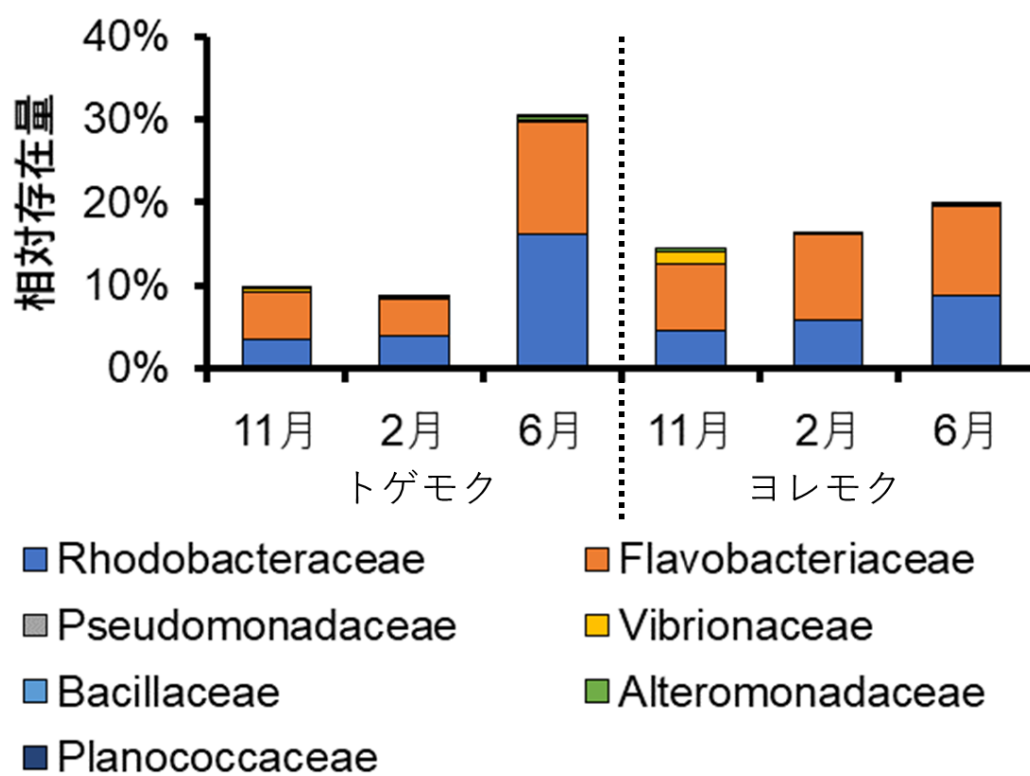


図 3-5. トゲモクおよびヨレモクにおける潜在的病原性細菌群の割合の変化.

トゲモクでは近年、抗ウイルス活性物質が発見されており (Hayashi et al. 2006), ヨレモクでもヒドロ虫の変態を誘引する活性物質についての報告がある (Nishihira 1968)。また、本研究では直接の検証ができなかったが、両種の形態フェノロジーにも差異があった可能性がある。日本産ホンダワラ類の季節消長を調べた研究で、同一地点のトゲモクとヨレモクを比較した例がないため、第2章で明らかになったトゲモクの季節消長を近隣海域の牡鹿半島西岸の石巻市狐崎浜のヨレモク (Bakti 2018) と比較した。その結果、ヨレモクの主枝の伸長はトゲモクに先行するが、伸長から肥大にいたる過程はトゲモクの方が早いことが示唆された。また、ヨレモクでは藻体の流出時にすでに次年度の新芽が形成されることも知られている (島袋 2018)。基質海藻のフェノロジーに応じて葉上細菌叢の構造が季節変化することから (Staufenberger et al. 2008; Tujula et al. 2010; Bengtsson et al. 2010; Lachnit et al. 2011; Miranda et al. 2013; Michelou et al. 2013; Mancuso et al. 2016; Serebryakova et al. 2018), 両種の形態フェノロジーの差異が細菌叢の構造に影響を与えていた可能性がある。今後、葉上細菌叢の調査を行うにあたっては、基質海藻の季節消長も考慮することが望まれる。

## 4 章 総合考察

### 4.1. 葉上動物群集の季節的遷移過程

本研究第2章では、ホンダワラ類のフェノロジーに伴う葉上動物の群集構造の季節的な遷移過程が明らかとなった。また、第3章では、それと並行して細菌叢の構造も変化していることが明らかとなった。細菌叢の変化は葉上動物群集の形成過程にどのような影響を与えているのだろうか。

細菌と動物ベントスとの関係については、基質バイオフィルムを構成する細菌の存在が浮遊幼生の着底や変態の条件になることがコケムシ類やフジツボ類、多毛類などの固着性動物を中心に報告されている (e.g. Brancato & Woollacott 1982; Maki et al. 1988, 1992; Todd & Keough 1994; Qian 1999)。移動性のマクロベントスでは、細菌類が基質組織を分解することにより、植食性の端脚類および巻貝類が基質海藻を摂食しやすくなるという報告がある (Norderhaug et al. 2003)。また、メイオベントスでは、ソコミジンコ類 (Brown & Sibert 1977; Rieper 1978, 1982; Ustach 1982; Dahms et al. 2007) や線虫類 (Moens et al. 1999) などの主要な食物となり (reviewed by Hicks & Coull 1983; Montagna 1995), 砂中 (Gray 1966a, b, 1967a,b, 1968; Gray & Johnson 1970) や葉上 (Trotter & Webster 1984) における分布や密度の決定要因となる。これらのことから、細菌叢の変化に対する反応はマクロベントスよりも直接の食物として利用するメイオベントスの方が早いことが考えられる。実際、第3章で示した PCA の座標軸上における反応を比較すると、ソコミジンコ類の形態群組成の反応の幅は分類群全体よりも広く、細菌叢の影響を比較的受けやすいことが伺える (図 4-1)。

以上を踏まえて、本研究で明らかになったホンダワラ類のフェノロジーに伴う変化を図にまとめた (図 4-2)。ホンダワラ類は萌出後、水温の低下と海中の栄養塩類濃度の上昇に伴って伸長する。葉上細菌叢では海藻由来と考えられる *Oxyphotobacteria* の割合の増加によって一時的に多様度が低下する。新しく出現した藻体上部にはまず、ソコミジンコ類・貝形虫類・線虫類などのメイオベントスが加入する。日照時間が長くなり海中の植物生産

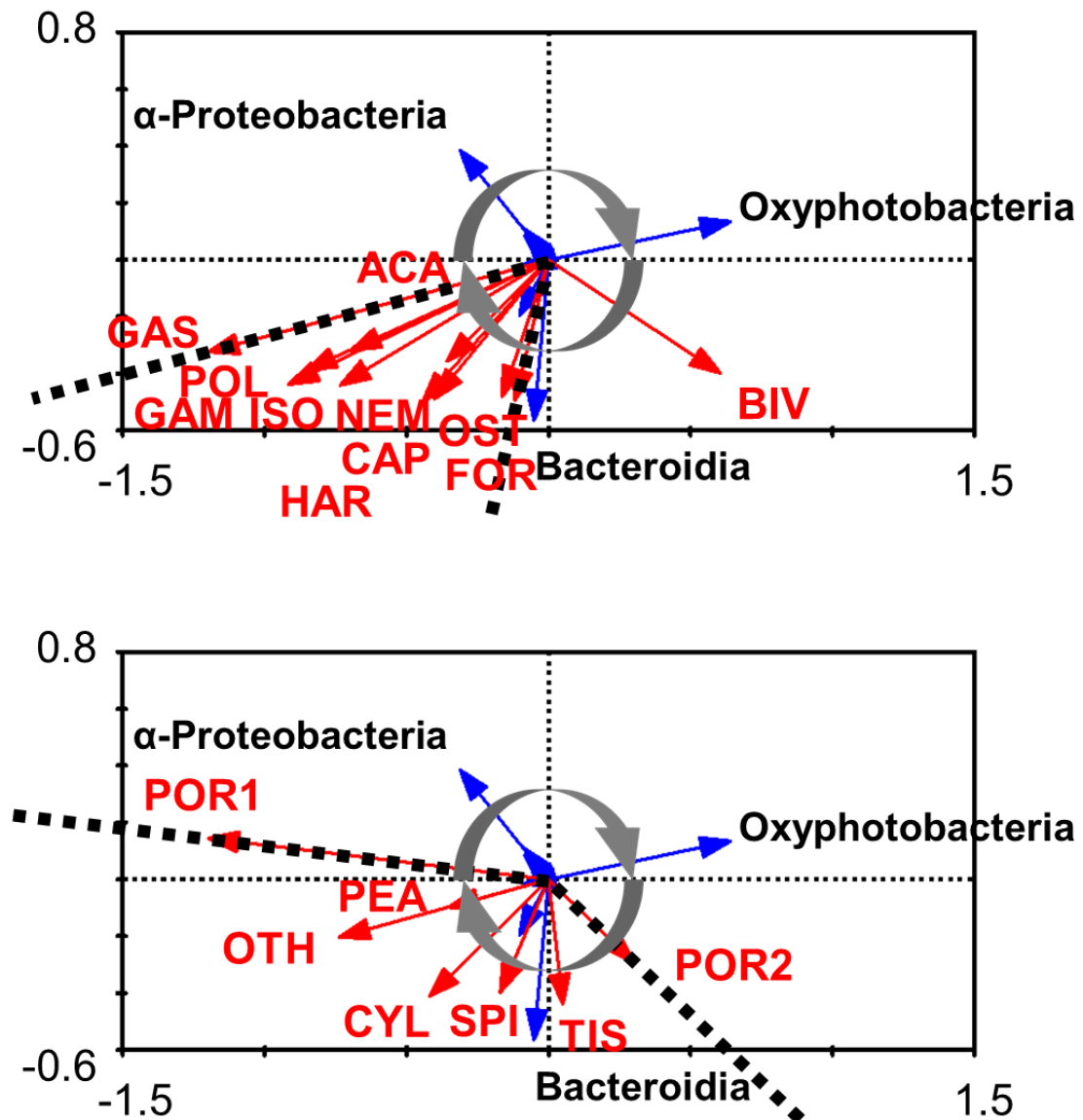


図 4-1. ホンダワラ類の葉上細菌叢の PCA プロットに対する、葉上動物の分類群全体 (GAM : ヨコエビ類, CAP : ワレカラ類, ISO : 等脚類, OST : 貝形虫類, HAR : ソコミジンコ類, GAS : 腹足類, BIV : 二枚貝類, POL : 多毛類, NEM : 線虫類, FOR : 有孔虫類, ACA : ダニ類) の反応 (上図) と、ソコミジンコ類の形態群 (SPI : 紡錘形, CYL : 円筒形, POR1 : 卵形 (*Porcellidium* sp.1), POR2 : 楕円形 (*Porcellidium* sp.2), PEA : 洋梨形, TIS : イソミジンコ属 (*Tisbe* spp.), OTH : その他) の反応 (下図).

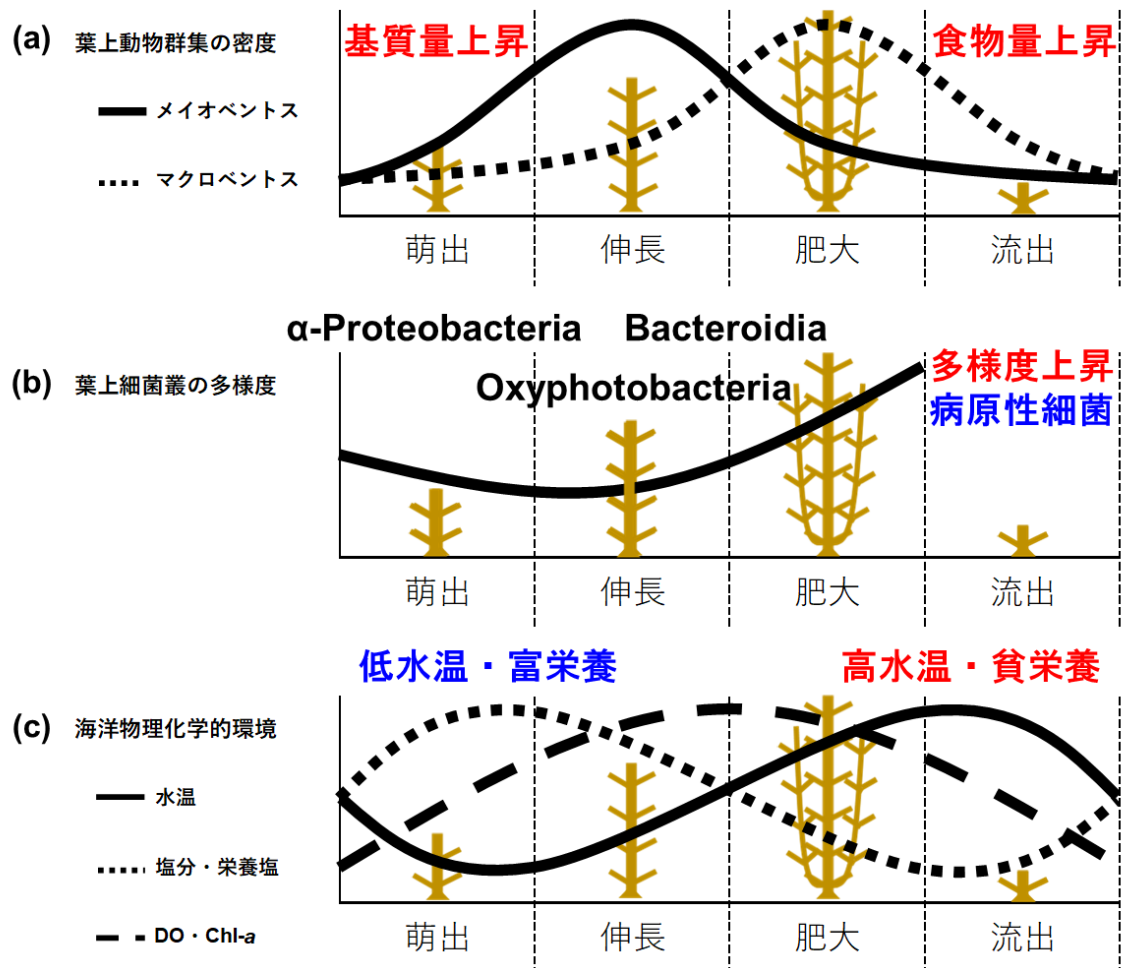


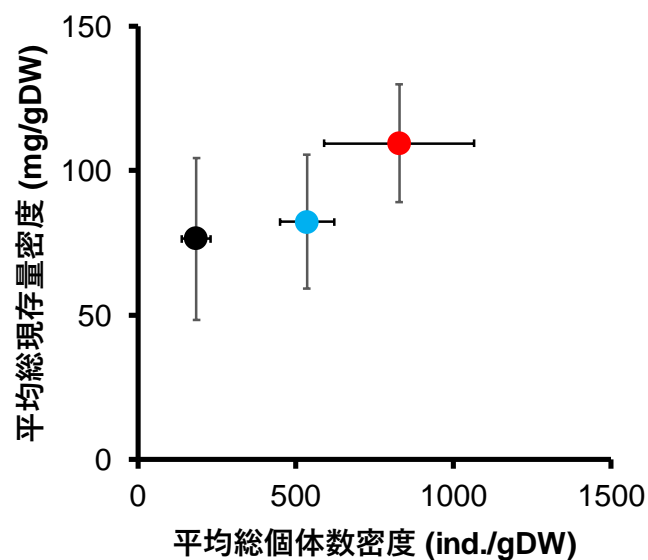
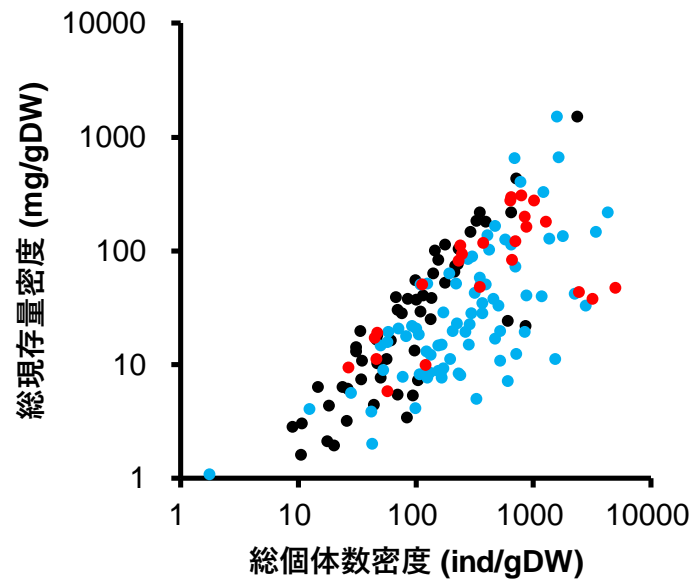
図 4-2. ホンダワラ類の葉上生物群集の季節的遷移過程. 図はそれぞれ, 基質海藻のフェノロジーの変化に応じた (a) 葉上動物の個体数密度, (b) 葉上細菌叢の多様度, (c) 海洋環境パラメータの相対的な変化を表す。



が活発になると、溶存酸素濃度やクロロフィル *a* 濃度が上昇する。肥大型に入ると葉上細菌叢には *Bacteroidia* が優占し、多様度の上昇と相まって潜在的病原性細菌群の割合も増加する。これにより繁殖後の基質組織の分解・劣化が促進される。食物の利用可能性が向上した葉上には、メイオベントス群に代わって端脚類・腹足類・多毛類といったマクロベントスが優占する。その摂餌行動は海中の水温上昇に伴って活発化し、グレイジングによって基質組織の分解がさらに促進される。やがて藻体上部が流出すると葉上動物は生息場所を失い、海中は高水温・貧栄養な環境となる。向井は、こうした葉上生物の群集形成過程を食物関係や棲み込み関係として説明しているが (向井 1978, 1994a, b), 動物群集と細菌叢の実際の群集構造を明らかにしたのは本研究がはじめてである。本研究ではマクロベントスだけでなく、メイオベントスや細菌類を同時に調べることで、季節的な遷移過程についての上述の仮説を導き出すことができた。

#### 4.2. 宮城県のホンダワラ類葉上動物群集

最後に、本研究で得られた竹浦のホンダワラ類葉上動物のデータと、同じ環境省 (2008) の調査方法で取得された (1) 震災前 (2002–2007) の全国データ (環境省 2008) ならびに (2) 震災直後 (2011–2014) の女川湾・志津川湾における宮城県データ (鈴木ら 2015) との比較を試みた。各データセットには、採集時期・基質海藻種・海域がそれぞれ異なるサンプルが含まれているが、いずれもホンダワラ類葉上動物のデータであり、海中採集およびサイズ分類の手法も統一されている。サンプルの総個体数密度と総現存量密度を同一平面上にプロットしたところ、総個体数密度の平均値は女川湾竹浦 > 宮城県 (女川湾・志津川湾) > 全国、総現存量密度の平均値は女川湾竹浦 > 宮城県 (女川湾・志津川湾) = 全国の順に異なった (Tukey-Kramer の多重比較検定,  $p < 0.05$ ) (図 4-3)。このことから、宮城県の葉上動物は総現存量密度が全国平均以上かつ総個体数密度が高い、つまりホンダワラ類の群落に環境収容力の高さ、引いては沿岸域全体の一次生産力の高さを表している可能性が



- 全国データ (環境省 2008)
- 宮城県データ (鈴木ら 2015)
- 竹浦データ (本研究)

図 4-3. ホンダワラ類葉上動物群集に関する 3 つのデータセット (全国データ (2002–2007 年, 環境省 2008), 宮城県データ (2011–2014 年, 鈴木ら 2015), 竹浦データ (2016–2020 年, 本研究) の総個体数密度および総現存量密度の比較. データセット毎に色分けした, すべてのサンプルのプロット (上図) とそれぞれの平均値 (下図) の比較。

ある。また、震災直後の女川湾・志津川湾における総現存量密度の値よりも本研究の竹浦の値が高いのは、津波による大規模攪乱からの回復を示唆しているのかもしれない。

宮城県におけるホンダワラ類葉上動物群集が沿岸の一次生産力を反映しているならば、その背景として沿岸生物環境の動態を把握しておくことは重要である。女川原子力発電所温排水調査結果（宮城県・東北電力（株）2020）によれば、海藻群落の被度の変化について次のことが読み取れた：(1) サンゴモ目サビ亜科 *Melobesioideae* は2011年（約20%）から2018年（約80%）に上昇した、(2) エゾノネジモク *Sargassum yezoense* は2015年（0%）から2017年（約10%）に上昇後、2018年（約5%）に再び低下した、(3) フクリンアミジ *Dilophus okamurae* は震災以前（約60%）から2011年以後（約10%）に低下した、(4) アラメ・トゲモクは2013年（それぞれ約40%、約50%）に上昇後、2017年（約5%）に低下した。これらのことから、竹浦における海藻群落の規模は、震災の発生した2011年を境に一時的に好転したが2017年には再び悪化したことが推察された。その後の調査結果は、随時公表される予定である。とくに2017–2020年の調査結果については、本研究で調べた葉上動物群集の構造の経年変化との関係性が見出せるはずである。今後、こうしたビッグデータを詳細に解析すれば、葉上動物群集の構造と沿岸の一次生産力との関係性が明らかになるかもしれない。

#### 4.3. 藻場のモニタリングに対する今後の展望

藻場の保全のためのモニタリング調査はこれまで、藻場を構成する大型植物の種組成・被度・現存量に重点が置かれ、調査頻度は毎年1回で行われることが多かった（環境省2013, 2019）。しかし、藻場生態系は大型植物のみで構成されるのではない。葉上動物群集やバイオフィルムを構成する細菌叢も基質海藻とさまざまな相互関係を有し、さまざまな時空間的スケールで変動している。葉上動物が藻場の生物環境や物質循環の活発さを反映

していると考えれば、これからの藻場のモニタリングでは葉上動物も調査対象とするべきである。

動物分類群全体の構造を比較すれば藻場の一次生産力の評価につながり、ソコミジンコ類などの特定の分類群の環境特性に注目すれば、葉上の微細環境を知ることにつながる。また、季節毎あるいは年に複数回の調査を実施することにより、藻場の（自然の）変動性が理解できれば、将来の津波などの攪乱の影響を評価することもできる。また、細菌叢を含む葉上生物群集の遷移過程を理解することは、海藻とベントスとの相互関係を理解する上で重要である。

海洋ベントスと共在生物群集との相互関係は、ホロビオン概念の普及に伴って今後ますます注目されるだろう。ホンダワラ類の葉上動物および細菌叢は、そのモデル群集と呼ぶに相応しい。沿岸藻場の保全やモニタリングを念頭に、海藻と葉上生物群集との相互関係のしくみを理解するために、当該分野のさらなる研究の発展を期待したい。

## 謝辞

本研究を行うにあたり，終始ご指導ご鞭撻を賜った青木優和准教授に心から感謝を申し上げます。片山知史教授と池田実教授には副査を，藤井豊展准教授，陶山佳久准教授，中嶋正道准教授には最終試験委員を務めていただき，数多くの有意義なご助言を頂いた。猪股英里助教には，本研究の過程を常に見守り補助していただいた。ソコミジンコ類の分類研究の手法については立正大学の岩崎望先生にご教授いただいた。葉上細菌のメタ 16S 解析では，アンプリコン解析を引き受けてくださった早稲田大学の竹山春子教授と松永浩子氏に御礼申し上げます。解析手法や結果の解釈にあたっては，福田康弘助教に有意義なご助言を頂いた。ドローンによる空中撮影および画像解析では，南三陸町自然環境活用センターの阿部拓三氏と横浜市港湾局の村田裕樹氏にご協力いただいた。野外採集調査では，宮城県漁業協同組合女川町支所の阿部克夫氏，故鈴木悦郎氏，渡辺秀久氏，鈴木強氏，石巻東部支所の平塚秀正氏，志津川支所青年部の小野具大氏，ダイビングステージ・アリエルの大島宗明氏と小玉志穂子氏にご協力いただいた。葉上動物のソーティングをお手伝いいただいた芳賀和生氏と，東北マリンサイエンス復興支援室の星野淳子氏からは，いつも温かい励ましの言葉を頂いた。最後に，研究室活動をさまざまな面から支えてくださった水圏植物生態学分野の学生諸氏と，本研究のためにお力添えくださったすべての方々に心から御礼申し上げます。本研究は，文部科学省東北マリンサイエンス拠点形成事業 (TEAMS) の一環で行われた。

## 引用文献

- 青木淳一 (1973) 土壤動物学. 北隆館, 東京
- 青木優和 (1988) ヤツマタモク群落内における葉上ワレカラ個体群の変動要因について (予報). ベントス研究会誌, 32: 42–49
- 青木優和 (1998) フクロエビ類の移動についての謎. 生物科学, 49: 219–227
- 青木優和 (2004) 流れ藻葉上動物の生態. 月刊海洋, 36: 469–473
- Aguilar-Rosas R, Galindo AM (1990) Ecological aspects of *Sargassum muticum* (Fucales, Phaeophyta) in Baja California, Mexico: reproductive phenology and epiphytes. Hydrobiologia, 204: 185–190
- 赤池章一・瀧谷明郎・津田藤典 (2002) 北海道沿岸におけるコンブノネクイムシの出現状況 (短報). 北水試研報, 61: 25–28
- Bachelet G (1990) The choice of a sieving mesh size in the quantitative assessment of marine macrobenthos: a necessary compromise between aims and constraints. Mar Environ Res, 30: 21–35
- Bakti NS (2018) Comparative phenological studies of two *Sargassum* species on the western coast of Oshika Peninsula, northeastern Japan. Master thesis, Institute of Agricultural Science, Tohoku University
- Bass D, Stentiford GD, Wang HC, Koskella B, Tyler CR (2019) The pathobiome in animal and plant diseases. Trends Ecol Evol, 34: 11
- Belattmania Z, Chaouti A, Reani A, Machado M, Engelen AH, Serrão EÁ, Sabour B (2018) Similar epiphytic macrofauna inhabiting the introduced *Sargassum muticum* and native fucoids on the Atlantic coast of Morocco. Cryptogamie Algol, 39: 269–292
- Bell SS, Walters K, Hall MO (1987) Habitat utilization by harpacticoid copepods: a morphometric approach. Mar Ecol Prog Ser, 35: 59–64

- Bengtsson MM, Sjøtun K, Øvreås L (2010) Seasonal dynamics of bacterial biofilms on the kelp *Laminaria hyperborean*. *Aquat Microb Ecol*, 60: 71–83
- Bjærke MR, Fredriksen S (2003) Epiphytic macroalgae on the introduced brown seaweed *Sargassum muticum* (Yendo) Fensholt (Phaeophyceae) in Norway. *Sarsia*, 88: 353–364
- Bokulich NA, Subramanian S, Faith JJ, Gevers D, Gordon JI, Knight R, Mills DA, Caporaso JG (2013) Quality-filtering vastly improves diversity estimates from Illumina amplicon sequencing. *Nat Methods*, 10: 57–59
- Booth WE (1987) Contribution by diatoms to marine algal host-epiphyte photosynthesis. *Bot Mar*, 30: 129–140
- ter Braak CJF & Smilauer P (2002) CANOCO Reference Manual and CanoDraw for Windows User's Guide: Software for Canonical Community Ordination (version 4.5), Microcomputer Power, Ithaca, New York.
- Bracken MES, Gonzalez-Dorantes CA, Stachowicz JJ (2007) Whole-community mutualism: associated invertebrates facilitate a dominant habitat-forming seaweed. *Ecology*, 88: 2211–2219
- Brancato MS, Woollacott RM (1982) Effect of microbial films on settlement of bryozoan larvae (*Bugula simplex*, *B. stolonifera* and *B. turrita*). *Mar Biol*, 71: 51–56
- Brawley SH (1992) Mesoherbivores. In: *Plant-animal Interactions in the Marine Benthos*, John DM, Hawkins SJ, Price JH (ed.), Clarendon Press, Oxford, pp. 235–263
- Brawley SH, Adey WH (1981) Micrograzers may affect macroalgal density. *Nature*, 292: 177
- Brown TJ, Sibert JR (1977) Food of some benthic harpacticoid copepods. *J Fish Res Bd Can*, 34: 1028–1031

- Burke C, Thomas T, Lewis M, Steinberg P, Kjelleberg S (2011) Composition, uniqueness and variability of the epiphytic bacterial community of the green alga *Ulva australis*. ISME J, 5: 590–600
- Buschbaum C, Chapman AS, Saier B (2006) How an introduced seaweed can affect epibiota diversity in different coastal systems. Mar Biol, 148: 743–754
- Campbell AH, Marzinelli EM, Gelber J, Steinberg PD (2015) Spatial variability of microbial assemblages associated with a dominant habitat-forming seaweed. Front Microbiol, 6: 230
- Caporaso JG, Kuczynski J, Stombaugh J, Bittinger K, Bushman FD, Costello EK, Fierer N, Peña AG, Goodrich JK, Gordon JI, Huttley GA, Kelley ST, Knights D, Koenig JE, Ley RE, Lozupone CA, McDonald D, Muegge BD, Pirrung M, Reeder J, Sevinsky JR, Turnbaugh PJ, Walters WA, Widmann J, Yatsunenko T, Zaneveld J, Knight R (2010) QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. Nat Methods, 7: 335–336
- Caporaso JG, Lauber CL, Walters WA, Berg-Lyons D, Huntley J, Fierer N, Owens SM, Betley J, Fraser L, Bauer M, Gormley N, Gilbert JA, Smith G, Knight R (2012) Ultra-high-throughput microbial community analysis on the Illumina HiSeq and MiSeq platforms. ISME J, 6: 1621–1624
- Carvalho NF, Grande H, Filho JSR, Jacobucci GB (2018) The structure of gammarid amphipod (Crustacea, Peracarida) assemblages associated with *Sargassum* (Phaeophyta, Fucales) and their link with the structural complexity of algae. Hydrobiologia, 820: 245–254
- Chemello R, Milazzo M (2002) Effect of algal architecture on associated fauna: some evidence from phytal molluscs. Mar Biol, 140: 981–990
- Clarke KR (1993) Non-parametric multivariate analyses of changes in community structure. Aust J Ecol, 18: 117–143



- Clarke KR, Gorley RN (2006) PRIMMER v6: user manual/tutorial. PRIMER-E Ltd. Plymouth Marine Laboratory, UK
- Clements WH, Livingston RJ (1984) Prey selectivity of the fringed filefish *Monacanthus ciliatum* (Pisces: Monacanthidae): role of prey accessibility. *Mar Ecol Prog Ser*, 16: 291–295
- Coen LD, Heck KL, Abele LG (1981) Experiments on competition and predation among shrimps of seagrass meadows. *Ecology*, 62: 1484–1493
- Curvelo RR, Corbisier TN (2000) The meiofauna associated with *Sargassum cymosum* at Lázaro Beach, Ubatuba, São Paulo. *Rev Bras Oceanogr*, 48: 119–130
- Dahl E (1948) On the smaller Arthropoda of marine algae, especially in the polyhaline waters off the Swedish west coast. In: *Undersökningar över Öresund*, 35: 1–193
- Dahms HU, Harder T, Qian PY (2007) Selective attraction and reproductive performance of a harpacticoid copepod in a response to biofilms. *J Exp Mar Biol Ecol*, 341: 228–238
- Davenport AC, Anderson TW (2007) Positive indirect effects of reef fishes on kelp performance: the importance of mesograzers. *Ecology*, 88: 1548–1561
- Duffy JE (1990) Amphipods on seaweeds: partners or pests? *Oecologia*, 83: 267–276
- Duffy JE, Hay ME (2000) Strong impacts of grazing amphipods on the organization of a benthic community. *Ecol Monogr*, 70: 237–263
- Edgar GJ (1983a) The ecology of south-east Tasmanian phytal animal communities. I. Spatial organization on a local scale. *J Exp Mar Biol Ecol*, 70: 129–157
- Edgar GJ (1983b) The ecology of south-east Tasmanian phytal animal communities. II. Seasonal change in plant and animal populations. *J Exp Mar Biol Ecol*, 70: 159–179
- Edgar GJ (1983c) The ecology of south-east Tasmanian phytal animal communities. IV. Factors affecting the distribution of amphipods among algae. *J Exp Mar Biol Ecol*, 70: 205–225

- Edgar GJ (1990a) Population regulation, population dynamics and competition amongst mobile epifauna associated with seagrass. *J Exp Mar Biol Ecol*, 144: 205–234
- Edgar GJ (1990b) The use of the size structure of benthic macrofaunal communities to estimate faunal biomass and secondary production. *J Exp Mar Biol Ecol*, 137: 195–214
- Edgar GJ (1991) Artificial algae as habitats for mobile epifauna: factors affecting colonization in Japanese *Sargassum* bed. *Hydrobiologia*, 226: 111–118
- Edgar RC (2004) MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic Acids Res*, 32: 1792–1797
- Edgar RC (2013) UPARSE: highly accurate OTU sequences from microbial amplicon reads. *Nat Methods*, 10: 996–998
- Edgar RC, Haas BJ, Clemente JC, Quince C, knight R (2011) UCHIME improves sensitivity and speed of chimera detection. *Bioinformatics*, 27: 2194–2200
- Egan S, Gardiner M (2016) Microbial dysbiosis: rethinking disease in marine ecosystems. *Front Microbiol*, 7: 991
- Egan S, Harder T, Burke C, Steinberg P, Kjelleberg S, Thomas T (2013) The seaweed holobiont: understanding seaweed-bacteria interactions. *FEMS Microbiol Rev*, 37: 462–476
- Egan S, Fernandes ND, Kumar V, Gardiner M, Thomas T (2014) Bacterial pathogens, virulence mechanism and host defense in marine macroalgae. *Environ Microbiol*, 16: 925–938
- Fenwick CD (1976) The effect of wave exposure on the amphipod fauna of the alga *Caulerpa brownii*. *J Exp Mar Biol Ecol*, 25: 1–18
- Fernandes N, Steinberg P, Rusch D, Kjelleberg S, Thomas T (2012) Community structure and functional gene profile of bacteria on healthy and diseased thalli of the red seaweed *Delisea pulchra*. *PLoS One*, 7: e50854

- Florez JZ, Camus C, Hengst MB, Buschmann AH (2017) A functional perspective analysis of macroalgae and epiphytic bacterial community interaction. *Front Microbiol*, 8: 2561
- Fujii T, Kaneko K, Murata H, Yonezawa C, Katayama A, Kuraishi M, Nakayama Y, Takahashi D, Gomi Y, Abe H, Kijima A (2019) Spatio-temporal dynamics of benthic macrofaunal communities in relation to the recovery of coastal aquaculture operations following the 2011 Great East Japan Earthquake and Tsunami. *Front Mar Sci*, 5: 535
- 藤田大介・新井章吾・村瀬昇・田中次郎・渡辺孝夫・小善圭一・松村航・長谷川和清・千村貴子・佐々木美貴・松井香里 (2003) 氷見市蛇が島周辺のガラモ場の垂直分布, 生産構造および葉上動物相. *富山水試研報*, 14: 43–60
- 布施慎一郎 (1962) ガラモ場における動物群集. *生理生態*, 11: 23–45
- Gee JM, Warwick RM (1994a) Metazoan community structure in relation to the fractal dimensions of marine macroalgae. *Mar Ecol Prog Ser*, 103: 141–150
- Gee JM, Warwick RM (1994b) Body-size distribution in a marine metazoan community and the fractal dimensions of macroalgae. *J Exp Mar Biol Ecol*, 178: 247–259
- Gestoso I, Olabarria C, Troncoso JS (2012) Effects of macroalgal identity on epifaunal assemblages: native species *versus* the invasive species *Sargassum muticum*. *Helgol Mar Res*, 66: 159–166
- Gunnill FC (1982a) Macroalgae as habitat patch islands for *Scutellidium lamellipes* (Copepoda: Harpacticoida) and *Ampithoe tea* (Amphipoda: Gammaridae). *Mar Biol*, 69: 103–116
- Gunnill FC (1982b) Effects of plant size and distribution on the numbers of invertebrate species and individuals inhabiting the brown alga *Pelvetia fastigiata*. *Mar Biol*, 69: 263–280
- Gunnill FC (1983) Seasonal variations in the invertebrate faunas of *Pelvetia fastigiata* (Fucaceae): effects of plant size and distribution. *Mar Biol*, 115–130
- Gibbons MJ (1988a) The impact of sediment accumulations, relative habitat complexity and elevation on rocky shore meiofauna. *J Exp Mar Biol Ecol*, 122: 225–241

- Gibbons MJ (1988b) The impact of wave exposure on the meiofauna of *Gelidium pristoides* (Turner) Kuetzing (Gelidiales: Rhodophyta). *Estuar Coast Shelf S*, 27: 581–593
- Gibbons MJ, Griffiths CL (1986) A comparison of macrofaunal and meiofaunal distribution and standing stock across a rocky shore, with an estimate of their productivities. *Mar Biol*, 93: 181–188
- Goecke F, Labes A, Wiese J, Imhoff JF (2010) Chemical interactions between marine macroalgae and bacteria. *Mar Ecol Prog Ser*, 409: 267–300
- Gray JS (1966a) Factors controlling the localizations of populations of *Protodrilus symbioticus* Giard. *J Anim Ecol*, 35: 435–442
- Gray JS (1966b) The attractive factor of intertidal sands to *Protodrilus symbioticus* Giard. *J Mar Biol Assoc UK*, 46: 627–645
- Gray JS (1967a) Substrate selection by the archiannelid *Protodrilus rubropharyngeus* Jägersten. *Helgoländer Wiss Meeresunters*, 15: 253–269
- Gray JS (1967b) Substrate selection by the archiannelid *Protodrilus hypoleucos* Armenante. *J Exp Mar Biol Ecol*, 1: 47–54
- Gray JS (1968) An experimental approach to the ecology of the harpacticid *Leptastacus constrictus* Lang. *J Exp Mar Biol Ecol*, 2: 278–292
- Gray JS, Johnson RM (1970) The bacteria of a sandy beach as an ecological factor affecting the interstitial gastrotrich *Turbanella hyalina* Schultze. *J Exp Mar Biol Ecol*, 4: 119–133
- Haas BJ, Gevers D, Earl AM, Feldgarden M, Ward DV, Giannoukos G, Ciulla D, Tabbaa D, Highlander SK, Sodergren E, Methé B, DeSantis TZ, The Human Microbiome Consortium, Petrosino JF, Knight R, Birren BW (2011) Chimeric 16S rRNA sequence formation and detection in Sanger and 454-pyrosequenced PCR amplicons. *Genome research*, 21: 494–504

- Habe T (1960) Egg masses and egg capsules of some Japanese marine prosobranchiate gastropod. Bull Mar Biol Station Asamushi, 10: 121–126
- Hagerman L (1966) The macro- and microfauna associated with *Fucus serratus* L., with some ecological remarks. *Ophelia*, 3: 1–43
- Hayashi K, Mori J, Saito H, Hayashi T (2006) Antiviral targets of a chromene derivative from *Sargassum micracanthum* in the replication of human cytomegalovirus. *Biol Pharm Bull*, 29: 1843–1847
- Heck KL, Thoman TA (1981) Experiments on predator-prey interactions in vegetated aquatic habitats. *J Exp Mar Biol Ecol*, 53: 125–134
- Hicks GRF (1977a) Observations on substrate preference of marine phytal harpacticoids (Copepoda). *Hydrobiologia*, 56: 7–9
- Hicks GRF (1977b) Species associations and seasonal population densities of marine phytal harpacticoid copepods from Cook Strait. *N Z J Mar Freshw Res*, 11: 621–643
- Hicks GRF (1979) Pattern and strategy in the reproductive cycles of benthic harpacticoid copepods. In: *Cyclic Phenomena in Marine Plants and Animals*, Naylor E, Hartnoll RG (ed.), Pergamon Press, Oxford, pp. 139–147
- Hicks GRF (1980) Structure of phytal harpacticoid copepod assemblages and the influence of habitat complexity and turbidity. *J Exp Mar Biol Ecol*, 44: 157–192
- Hicks GRF (1985) Meiofauna associated with rocky shore algae. In: *The Ecology of Rocky Coasts*, Moore PG, Seed R (ed.), Hodder and Stoughton, London, pp. 36–56
- Hicks GRF, Coull BC (1983) The ecology of marine meiobenthic harpacticoid copepods. *Oceanogr Mar Biol*, 21: 67–175
- Hirst AJ (2007) Vertical stratification of mobile epiphytal arthropod assemblages between the canopy and understorey of subtidal macroalgae. *Mar Biol*, 150: 427–441

- Hollants J, Leliaert F, Clerck OD, Willems A (2012) What we can learn from sushi: a review on seaweed-bacterial associations. *FEMS Microbiol Ecol*, 83: 1–16
- Imada K, Hirayama A, Nojima S, Kikuchi T (1981) The microdistribution of phytal amphipods on *Sargassum* seaweeds. *Res Crust*, 11: 124–137
- Imada K, Kikuchi T (1984) Studies on some reproductive traits of three caprellids (Crustacea: Amphipoda) and their seasonal fluctuations in the *Sargassum* bed. *Pub Amakusa Mar Biol Lab*, 7: 151-172
- Ishida A, Sasaki K, Omori M, Taniguchi K (2002) Distribution patterns of the herbivorous gastropods *Chlorostoma lischkei* and *Omphalius pfeifferi pfeifferi* (Trochidae) in relation to the algal community on a rocky shore of the Oshika Peninsula, northeastern Japan. *Benthos Res*, 57: 1–10
- Ishimaru S (1996) Taxonomic review of the family Biancolinidae (Amphipoda: Gammaridea), with description of a new species from Japan. *J Crustac Biol*, 16: 395–405
- Ito K, Hamaguchi M, Inomata E, Agatsuma Y, Aoki MN (2019) Vertical distribution of epifauna on *Sargassum horneri*, with special reference to the occurrence of bivalve spat. *Plankton Benthos Res*, 14: 114–123
- 岩崎望 (2005) 海底でソコミジンコ類はどのように分布しているのか. カイアシ類学入門, 東海大学出版会, 神奈川県, pp. 219–242
- Jacobucci GB, Tanaka MO, Leite FPP (2009) Temporal variation of amphipod assemblages associated with *Sargassum filipendula* (Phaeophyta) and its epiphytes in a subtropical shore. *Aquat Ecol*, 43: 1031–1040
- Jacobucci GB, Vieira EA, Leite FPP (2019) influence of a narrow depth gradient on the spatial structure of *Sargassum* peracarid assemblages in Southeastern Brazil. *Mar Biol*, 49: 1001–1011

- Jarvis SC, Seed R (1996) The meiofauna of *Ascophyllum nodosum* (L.) Le Jolis: characterization of the assemblages associated with two common epiphytes. J Exp Mar Biol Ecol, 199: 249–267
- Jones DJ (1973) Variation in the trophic structure and species composition of some invertebrate communities in polluted kelp forests in the North Sea. Mar Biol, 20: 351–365
- Johnson SC, Scheibling RE (1987) Structure and dynamics of epifaunal assemblages on intertidal macroalgae *Ascophyllum nodosum* and *Fucus vesiculosus* in Nova Scotia, Canada. Mar Ecol Prog Ser, 37: 209–227
- 環境省 (2008) 第7回自然環境保全基礎調査浅海域生態系調査 (藻場調査) 報告書. 環境省 自然環境局生物多様性センター
- 環境省 (2013) 平成24年度東北地方太平洋沿岸地域自然環境調査等業務, 報告書. 環境省 自然環境局生物多様性センター
- 環境省 (2014) 平成25年度東北地方太平洋沿岸地域生態系監視調査, 調査報告書. 環境省 自然環境局生物多様性センター
- 環境省 (2015a) 平成26年度東北地方太平洋沿岸地域生態系監視調査, 調査報告書. 環境省 自然環境局生物多様性センター
- 環境省 (2015b) 平成26年度東北地方太平洋沿岸地域植生・海域等調査 調査報告書. 環境省 自然環境局生物多様性センター
- 環境省 (2016a) 平成27年度東北地方太平洋沿岸地域生態系監視調査, 調査報告書. 環境省 自然環境局生物多様性センター
- 環境省 (2016b) 平成27年度東北地方太平洋沿岸地域植生・海域等調査 調査報告書. 環境省 自然環境局生物多様性センター
- 環境省 (2017) 平成28年度東北地方太平洋沿岸地域生態系監視調査, 調査報告書. 環境省 自然環境局生物多様性センター

- 環境省 (2018) 平成 29 年度東北地方太平洋沿岸地域生態系監視調査, 調査報告書. 環境省  
自然環境局生物多様性センター
- 環境省 (2019) 平成 30 年度東北地方太平洋沿岸地域重点地区調査業務, 調査報告書. 環境  
省自然環境局生物多様性センター
- Khailov KM, Burlakova ZP (1969) Release of dissolved organic matter by marine seaweeds and  
distribution of their total organic production to inshore communities. *Limnol Oceanogr*, 14:  
521–527
- 菊池泰二 (1976) 藻場のベントス群集. 海藻・ベントス, 海洋科学基礎講座 5, 東海大出版  
会, 東京, pp. 308–325
- Kito K (1975) Preliminary Report on the Phytoplankton Animals in the *Sargassum confusum* Region in  
Oshoro Bay, Hokkaido. *Jour Fac Sci Hokkaido Univ Ser VI Zool*, 20: 141–158
- Kito K (1977) Phytoplankton Animals in the *Sargassum confusum* Region in Oshoro Bay, Hokkaido:  
Phenology of Harpacticoid Copepods. *Jour Fac Sci Hokkaido Univ Ser VI Zool*, 20: 691–696
- Kito K (1982) Phytoplankton marine nematode assemblage on *Sargassum confusum* Agardh, with reference  
to the structure and seasonal fluctuations. *Jour Fac Sci Hokkaido Univ Ser VI Zool*, 23: 143–  
161
- Klindworth A, Pruesse E, Schweer T, Peplies J, Quast C, Horn M, Glöckner FO (2013) Evaluation  
of general 16S ribosomal RNA gene PCR primers for classical and next-generation sequencing-  
based diversity studies. *Nucleic Acids Res*, 41: e1
- Kodama M, Kawamura T, Nakamoto K, Hayakawa J, Kitagawa T, Watanabe Y (2017) A  
comparison of amphipod assemblages between canopy and understory strata in seaweed and  
seagrass beds off the coast of Otsuchi Bay, Japan. *Biodiv Jour*, 8: 471–473
- Korpinen S, Jormalainen V, Honkanen T (2007) Bottom-up and cascading top-down control of  
macroalgae along a depth gradient. *J Exp Mar Biol Ecol*, 343: 52–63



- 倉持卓司 (2005) 相模湾におけるチグサガイの成長と個体数の季節変化. Jap Jour Malac, 63: 159–162
- Lachnit T, Blümel M, Imhoff JF, Wahl M (2009) Specific epibacterial communities on macroalgae: phylogeny matters more than habitat. Aquat Biol, 5: 181–186
- Lachnit T, Meske D, Wahl M, Harder T, Schmitz R (2011) Epibacterial community patterns on marine macroalgae are host-specific but temporally variable. Environ Microbiol, 13: 655–665
- Lepš J, Šmilauer P (2003) Multivariate Analysis of Ecological Data using CANOCO. Cambridge University Press, Cambridge.
- Magoč T, Salzberg SL (2011) FLASH: fast length adjustment of short reads to improve genome assemblies. Bioinformatics, 27: 2957–2963
- Maki JS, Rittschof D, Costlow JD, Mitchell R (1988) Inhibition of attachment of larval barnacles, *Balanus amphitrite*, by bacterial surface films. Mar Biol, 97: 199–206
- Maki JS, Rittschof D, Mitchell R (1992) Inhibition of larval barnacle attachment to bacterial films: an investigation of physical properties. Microbial Ecol, 23: 97–106
- Mancuso FP, D’Hondt S, Willems A, Airoidi L, Clerck OD (2016) Diversity and Temporal Dynamics of the Epiphytic Bacterial Communities Associated with the Canopy-Forming Seaweed *Cystoseira compressa* (Esper) Gerloff and Nizamuddin. Front Microbiol, 7: 1–11
- Mann KH (1982) Ecology of coastal waters: a systems approach. Blackwell Scientific Publications, Oxford, pp. 322
- Martin-Smith KM (1993) Abundance of mobile epifauna: the role of habitat complexity and predation by fishes. J Exp Mar Biol Ecol, 174: 243–260
- 丸井満・稲井宏臣・吉田忠生 (1981) 北海道忍路湾におけるホンダワラ類の生長と成熟について. 藻類, 29: 277–281

- Marzinelli EM, Campbell AH, Valdes EZ, Vergés A, Nielsen S, Wernberg T, Bettignies T, Bennett S, Caporaso JG, Thomas T, Steinberg PD (2015) Continental-scale variation in seaweed host-associated bacterial communities is a function of host condition, not geography. *Environ Microbiol*, 17: 4078–4088
- McKenzie JD, Moore PG (1981) The microdistribution of animals associated with the bulbous holdfasts of *Saccorhiza polyschides* (Phaeophyta). *Ophelia*, 20: 201–213
- Michelou VK, Caporaso JG, Knight R, Palumbi SR (2013) The ecology of microbial communities associated with *Macrocystis pyrifera*. *PLoS One*, 8: e67480
- Miranda LN, Hutchison K, Grossman AR, Brawley SH (2013) Diversity and abundance of the bacterial community of the red macroalga *Porphyra umbilicalis*: did bacterial farmers produce macroalgae? *PLoS One*, 8: e58269
- 宮城県・東北電力 (株) (2020) 女川原子力発電所温排水調査結果, 平成 30 年度. pp. 214–218
- Moens T, Verbeeck L, De Maeyer A, Swings J, Vincx M (1999) Selective attraction of marine bacterivorous nematodes to their bacterial food. *Mar Ecol Prog Ser*, 176: 165–178
- Montagna PA (1995) Rates of metazoan meiofaunal microbivory: a review. *Vie Milieu*, 45: 1–9
- Moore PG (1973) The kelp fauna of north-east Britain. II. Multivariate classification; turbidity as an ecological factor. *J Exp Mar Biol Ecol*, 13: 127–163
- Mukai H (1971) The phytal animals on the thalli of *Sargassum serratifolium* in the *Sargassum* region, with reference to their seasonal fluctuations. *Mar Biol*, 8: 170–182
- 向井宏 (1976) ガラモ葉上の貝類について. *貝類学雑誌*, 35: 119–133
- 向井宏 (1978) 藻場における生物群集の理解—すみ場所をめぐる種間関係から—. *ベントス研連誌*, 15/16: 87–93

- 向井宏 (1990) アマモ葉上性モエビ類のかくれがをめぐり競争と捕食者の役割. 日本ベントス学会誌, 39: 9–14
- 向井宏 (1994a) 藻場 (海中植物群落) の生物群集 (3) 一葉上生物群集のオーガニゼイション—. 海洋と生物, 16: 99–102
- 向井宏 (1994b) 藻場 (海中植物群落) の生物群集 (5) 一藻場構成植物と葉上性動物の相互作用—. 海洋と生物, 16: 276–281
- 向井宏 (1996) 藻場 (海中植物群落) の生物群集 (8) 一葉上動物の個体群動態—. 海洋と生物, 18: 44–46
- Mukai H, Ijima A (1995) Grazing effects of a gammaridean Amphipod *Amphitoe* sp., on the seagrass *Syringodium isoetifolium*, and epiphytes in a tropical seagrass bed of Fiji. Ecol Res, 10: 243–257
- Newcombe EM, Taylor RB (2010) Trophic cascade in a seaweed-epifauna-fish food chain. Mar Ecol Prog Ser, 408: 161–167
- Nishihira M (1968) Dynamics of natural populations of epiphytic Hydrozoa with special reference to *Sertularella miurensis* Stechow. Bull Mar Biol Stn Asamushi, 13: 103–124
- Noodt W (1971) Ecology of the Copepoda. Smithsonian Contributions to Zoology, 76: 97–102
- Norderhaug KM, Fredriksen S, Nygaard K (2003) Trophic importance of *Laminaria hyperborea* to kelp forest consumers and the importance of bacterial degradation to food quality. Mar Ecol Prog Ser, 255: 135–144
- Norton TA (1971) An ecological study of the fauna inhabiting the sublittoral marine alga *Saccorhina polyschides* (Lightf.) Bott. Hydrobiologia, 37: 215–231
- Norton TA & Benson MR (1983) Ecological interactions between the brown seaweed *Sargassum muticum* and its associated fauna. Mar Biol, 75: 169–177
- 大野正夫 (1985) 概論：ガラモ場—その環境と水産資源的効用. 月刊海洋科学, 17: 4–10

- Orth RJ, van Montfrans J (1984) Epiphyte-seagrass relationship with an emphasis on the role of micrograzing: a review. *Aquat Bot*, 18: 43–69
- Poore AGB, Watson MJ, de Nys R, Lowry JK, Steinberg PD (2000) Patterns of host use in alga- and sponge-associated amphipods. *Mar Ecol Prog Ser*, 208: 183–196
- Poore AGB, Campbell AH, Coleman RA, Edgar GJ, Jormalainen V, Reynolds PL, Sotka EE, Stachowicz JJ, Taylor RB, Vanderklift MA, Duffy JE (2012) Global patterns in the impact of marine herbivores on benthic primary producers. *Ecol Lett*, 15: 912–922
- Qian PY (1999) Larval settlement of polychaetes. *Hydrobiologia*, 402: 239–253
- Quast C, Priesse E, Yilmaz P, Gerken J, Schweer T, Yarza P, Peplies J, Glöckner FO (2013) The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. *Nucleic Acids Res*, 41: 590–596
- Raffaelli DG, Mason CF (1981) Pollution monitoring with meiofauna, using the ratio of nematodes to copepods. *Mar Pollut Bull*, 12: 158–163
- Rieper M (1978) Bacteria as food for marine harpacticoid copepods. *Mar Biol*, 45: 337–345
- Rieper M (1982) Feeding preferences of marine harpacticoid copepods for various species of bacteria. *Mar Ecol Prog Ser*, 7: 303–307
- Rohde S, Hiebenthal C, Wahl M, Karez R, Bischof K (2008) Decreased depth distribution of *Fucus vesiculosus* (Phaeophyceae) in the Western Baltic: effects of light deficiency and epibionts on growth and photosynthesis. *Eur J Phycol*, 43: 143–150
- Rohwer F, Seguritan V, Azam F, Knowlton N (2002) Diversity and distribution of coral-associated bacteria. *Mar Ecol Prog Ser*, 243: 1–10
- Ronsenberg E, Koren O, Reshef L, Efrony R, Zilber-Rosenberg I (2007) The role of microorganisms in coral health, disease and evolution. *Nat Rev Microbiol*, 5: 355–362

- Sarma ALN (1974) The phytal fauna of *Sargassum* off Visakhapatnam coast. J Exp Mar Biol Ecol, 16: 741–755
- Sánchez-Moyano JE, García-Adiego EM, Estacio FJ, García-Gómez JC (2000) Effect of environmental factors on the spatial distribution of the epifauna of the alga *Halopteris scoparia* in Algeciras Bay, southern Spain. Aquat Ecol, 34: 355–367
- Schloss PD, Westcott SL, Ryabin T, Hall JR, Hartmann M, Hollister EB, Lesniewski RA, Oakley BB, Parks DH, Robinson CJ, Sahl JW, Stres B, Thallinger GG, Van Horn DJ, Weber CF (2009) Appl Environ Microbiol, 75: 7537–7541
- Serebryakova A, Aires T, Viard F, Serrão EA, Engelen AH (2018) Summer shifts of bacterial communities associated with the invasive brown seaweed *Sargassum muticum* are location and tissue dependent. PLoS One, 13: 1–18
- Shelyakin PV, Garushyants SK, Nikitin MA, Mudrova SV, Berumen M, Speksnijder AGCL, Hoeksema BW, Fontaneto D, Gelfand MS, Ivanenko VN (2018) Microbiomes of gall-inducing copepod crustaceans from the corals *Stylophora pistillata* (Scleractinia) and *Gorgonia ventalina* (Alcyonacea). Sci Rep, 8: 11563
- Sheppard CRC, Bellamy DJ, Sheppard AL (1980) Study of the fauna inhabiting the holdfasts of *Laminaria hyperborea* (Gunn.) Fosl. along some environmental and geographical gradients. Mar Envir Res, 4: 25–51
- Sieburth JMN (1969) Studies on algal substances in the sea. III. The production of extracellular organic matter by littoral marine algae. J Exp Mar Biol Ecol, 3: 290–309
- 島袋寛盛 (2018) 日本産温帯性ホンダワラ属, ヨレモクとアキヨレモク. 海洋と生物, 40: 566–573
- Singh RP, Reddy CRK (2014) Seaweed-microbial interactions: key functions of seaweed-associated bacteria. FEMS Microbiol Ecol, 88: 213–230

- Staufenberger T, Thiel V, Wiese J, Imhoff JF (2008) Phylogenetic analysis of bacteria associated with *Laminaria saccharina*. FEMS Microbiol Ecol, 64: 65–77
- Stoner AW (1979) Species-specific predation on amphipod Crustacea by the pinfish *Lagodon rhomboides*: mediation by macrophyte standing crop. Mar Biol, 55: 201–207
- Suzuki H, Aoki T, Kubo Y, Endo H, Agatsuma Y, Aoki MN (2017) Distributional changes of the kelp community at a subtidal reef after the subsidence caused by the 2011 Tohoku Earthquake. Reg Stud Mar Sci 14: 73–83
- Suzuki H, Aoki T, Inomata E, Agatsuma Y, Aoki MN (2021) Effect of breakwater restoration work following the subsidence caused by the 2011 Tohoku Earthquake on the subtidal kelp population. Phycol Res, 69: 3–11
- 鈴木由香莉・青木優和・島袋寛盛・堀越彩香・遠藤光・吾妻行雄 (2015) ホンダワラ類葉上動物の群集特性についての解析—震災後女川湾調査からの検討—. 月刊海洋, 47: 210–219
- 高場稔・溝上昭男 (1982) 安芸灘西部黒島におけるガラモ藻場の季節的消長と垂直分布. 広島水試研報, 12: 33–44
- Tanaka MO, Leite FPP (1998) The effect of sieve mesh size on the abundance and composition of macrophyte-associated macrofaunal assemblages. Hydrobiologia, 389: 21–28
- Tanaka MO, Leite FPP (2003) Spatial scaling in the distribution of macrofauna associated with *Sargassum stenophyllum* (Mertens) Martius: analyses of faunal groups, gammarid life habits, and assemblage structure. J Exp Mar Biol Ecol, 293: 1–22
- 谷口和也・山田悦正 (1978) 能登飯田湾の漸深帯における褐藻ヤツマタモクとノコギリモクの生態. 日水研報告, 29: 239–253
- Taylor RB, Cole RG (1994) Mobile epifauna on subtidal brown seaweeds in northeastern New Zealand. Mar Ecol Prog Ser, 115: 271–282

- Todd CD, Keough MJ (1994) Larval settlement in hard substratum epifaunal assemblages: a manipulative field study of the effects of substratum filming and the presence of incumbents. *J Exp Mar Biol Ecol*, 181: 159–187
- 富田恭司・水島敏博 (1984) 野付湾におけるアマモ葉上の貝類—I. 出現種と主要 3 種の成長—*Jap Jour Malac*, 43: 331–338
- Trotter DB, Webster JM (1984) Feeding preferences and seasonality of free-living marine nematodes inhabiting the kelp *Macrocystis integrifolia*. *Mar Ecol Prog Ser*, 14: 151–157
- 土屋勇太郎・Nishihara GN・寺田竜太 (2010) 鹿児島県桜島におけるホンダワラ属 4 種の季節変化と生長特性. *藻類*, 58: 63
- 土屋勇太郎・坂口欣也・寺田竜太 (2011) 鹿児島湾桜島におけるホンダワラ属 (ヒバマタ目) 藻類 4 種, マメタワラ, ヤツマタモク, コブクロモク, キレバモクの季節的消長と生育環境. *藻類*, 59: 1–8
- Tsujimoto R, Terauchi G, Sasaki H, Sakamoto SX, Sawayama S, Sasa S, Yagi H, Komatsu T (2016) Damage to seagrass and seaweed beds in Matsushima Bay, Japan, caused by the huge tsunami of the Great East Japan Earthquake on 11 March 11. *Int J Remote Sens*, 37: 5843–5863
- Tujula NA, Crocetti GR, Burke C, Thomas T, Holmström C, Kjelleberg S (2010) Variability and abundance of the epiphytic bacterial community associated with a green marine Ulvacean alga. *ISME J*, 4: 301–311
- Umezaki I (1984) Ecological studies of *Sargassum horneri* (TURNER) C. Agardh in Obama Bay, Japan Sea. *Nippon Suisan Gakk*, 50: 1193–1200.
- Ustach JF (1982) Algae, bacteria and detritus as food for the harpacticoid copepod, *Heterosyllus pseudonunni* Coull and Palmer. *J Exp Mar Biol Ecol*, 64: 203–214
- Viejo RM (1999) Mobile epifauna inhabiting the invasive *Sargassum muticum* and two local seaweeds in northern Spain. *Aquat Bot*, 64: 131–149

- Warwick RM (1981) The nematode/copepod ratio and its use in pollution ecology. *Mar Pollut Bull*, 12: 329–333
- Warwick RM (1984) Species size distributions in marine benthic communities. *Oecologia*, 61: 32–41
- Warwick RM (1986) A new method for detecting pollution effects on marine microbenthic communities. *Mar Biol*, 92: 557–562
- Wernberg T, Thomsen MS, Staehr PA, Pedersen MF (2004) Epibiota communities of the introduced and indigenous macroalgal relatives *Sargassum muticum* and *Halidrys siliquosa* in Limfjorden (Denmark). *Helgol Mar Res*, 58: 154–161
- Withers RG, Farnham WF, Lewey S, Jephson NA, Haythorn JM, Gray PWG (1975) The epibionts of *Sargassum muticum* in British waters. *Mar Biol*, 31: 79–86
- 山本智子・濱口昌巳・吉川浩二・寺脇利信 (1999) 植生の異なる実験藻場における生物群集の決定要因. *水産工学*, 36: 1–10
- 八谷光介・清本節夫・吉村拓 (2011) 長崎県西彼杵半島西岸におけるホンダワラ属 3 種の季節的消長. *藻類*, 59: 139–144
- 吉田吾郎 (2005) 広島湾における褐藻アカモクのフェノロジーとその個体群間分化に関する研究. *水研センター研報*, 15: 27–126